THESE

présentée

A L'UNIVERSITE DE PARIS-SUD

CENTRE D'ORSAY

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

par

Michel DAUÇA

Sujet de la Thèse

Prolifération et différenciation des cellules souches de l'épithélium intestinal des Amphibiens Anoures, lors des métamorphoses naturelle et induite.

TEXTE

soutenue le 28 mai 1982, devant la commission d'examen

MM A. BEAUMONT
P. BERREUR
A. COLLENOT
J. HOURDRY
JS. HUGON
JC. MOUNOLOU

Orsay.
n° d'ordre. 2584.

THESE

présentée

A L'UNIVERSITE DE PARIS-SUD

CENTRE D'ORSAY

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

par

Michel DAUÇA

Sujet de la Thèse

Prolifération et différenciation des cellules souches de l'épithélium intestinal des Amphibiens Anoures, lors des métamorphoses naturelle et induite.

TEXTE

soutenue le 28 mai 1982, devant la commission d'examen

MM A. BEAUMONT
P. BERREUR
A. COLLENOT
J. HOURDRY
JS. HUGON
JC. MOUNOLOU

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Christiane et Bruno.
A Caroline aussi dont le sommeil si léger
m'a tenu l'esprit éveillé.

Fruit d'une coopération franco-québécoise, ce travail est également dédié à mes amis du Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke et particulièrement à ceux du Département Anatomie et Biologie Cellulaire.

Qu'il me soit permis de remercier ici tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail entrepris dans le cadre des laboratoires de Biologie-Vertébrés de l'Université Paris-Sud et de Biologie et Biochimie du Développement de l'Ecole Normale Supérieure de Saint-Cloud.

Mes remerciements vont tout d'abord à Monsieur le Professeur BEAUMONT qui m'a accueilli dans son laboratoire et m'a donné toutes facilités pour effectuer mes recherches dans les meilleures conditions. C'est avec le plus grand plaisir que j'ai travaillé sous sa direction. Je suis très heureux de lui exprimer ici ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance au Docteur HOURDRY qui a bien voulu suivre le déroulement de mes recherches. Ses conseils et son aide amicale furent pour moi de précieux soutiens durant ces années de travail.

Il m'est particulièrement agréable de remercier Monsieur le Professeur HUGON. A l'occasion de quatre missions réalisées dans le cadre des échanges France-Québec, j'ai pu apprécier l'intérêt qu'il m'a manifesté et les excellentes conditions de travail qu'il m'a offertes dans son laboratoire.

Je suis reconnaissant à Monsieur le Professeur BERREUR de l'accueil bienveillant qu'il m'a témoigné à chaque occasion. Je le remercie de la gentillesse et de la compréhension qu'il a manifestées à mon égard.

La présence à ce jury de Monsieur le Professeur COLLENOT est pour moi un grand honneur. J'ai été particulièrement sensible au soin avec lequel il a bien voulu relire mon manuscrit. Sa critique approfondie a grandement amélioré la version originale.

Je suis très reconnaissant à Monsieur le Professeur MOUNOLOU d'avoir bien voulu accepter la difficile tâche de rapporteur principal. Ses conseils et sa bienveillance m'ont été très précieux. Je lui exprime ici ma respectueuse gratitude.

Voyageur avec ou sans bagages, j'ai sollicité de nombreuses collaborations scientifiques. Je remercie Messieurs les Professeurs CHAPEVILLE (IRBM, Paris), FRIEDEN (Université de Tallahassee, Floride), LEMOIGNE (Université Paris-XII, Créteil) et WEBER (Université de Berne, Suisse) de leur hospitalité et des conseils qu'ils m'ont prodigués. Ma reconnaissance va également à Messieurs les Professeurs CALVERT et MENARD (Centre Hospitalier Universitaire, Sherbrooke) pour leur contribution dans ce travail et pour les facilités matérielles et techniques apportées dans sa réalisation.

Vouloir enseigner et consacrer sa recherche à la Métamorphose des Amphibiens relève parfois du défi. La métamorphose débute à un moment où l'enseignement universitaire n'est pas achevé. Je remercie vivement Monsieur le Professeur DUBUS, Directeur de l'Ecole Normale Supérieure de Saint-Cloud, et Monsieur le Professeur BELLEMERE pour leur compréhension en rendant possibles mes missions franco-québécoises. Je ne saurais oublier tout ce que je dois au Docteur GINSBURGER-VOGEL. Mes séjours canadiens furent pour lui un surcroît de travail. Qu'il trouve ici l'assurance de ma cordiale gratitude.

Je tiens à remercier Isabelle MARTELY et Claude BENICOURT pour le temps qu'ils ont su me consacrer en m'initiant aux techniques d'extraction des ARN et de traduction in vitro. Le travail réalisé avec eux constitue un de mes meilleurs souvenirs.

Je dois à Monsieur VAST du Centre Audio-Visuel et à Messieurs DRIGEARD, POTIER et VEILLAT du service de reprographie de l'ENS de Saint-Cloud, la réalisation iconographique de ce travail. Qu'ils en soient très vivement remerciés.

Je suis heureux de remercier Mesdames CORRIVEAU, HUGON et VEZINA du CHU de Sherbrooke pour l'aide technique qu'elles m'ont apportée. Au risque de froisser leur modestie que Mesdames DESROSIERS, MESNARD, NIEDERST et TROALEN sachent que leur patience, leur gentillesse, leurs encouragements et leur travail me furent des plus précieux. Je remercie aussi Madame NARRADON pour le soin avec lequel elle s'est occupée de mes élevages.

Je suis aussi très redevable à Madame BERGMAN ainsi qu'à Messieurs VOLLE et BREUIL de m'avoir très aimablement procuré le matériel nécessaire à mes expériences.

Ma reconnaissance s'étend à l'ensemble de mes collègues et personnels des laboratoires d'Orsay et de Saint-Cloud pour le soutien moral et matériel apporté dans l'éxécution de mon travail de recherche et d'enseignement.

SOMMAIRE

INTRODUCTION 1

REMARQUES PRELIMINAIRES 7

CHAPITRE I. PROLIFERATION DES CELLULES EMBRYONNAIRES DE L'EPITHELIUM INTESTINAL LARVAIRE 9

I - PHENOMENES HISTOGENETIQUES AU COURS DU DEVELOPPEMENT NATUREL 9

A. Modifications morphologiques du tractus digestif 9

1. Description des tranformations morphologiques 9

2. Conséquences morphométriques 10

B. Remaniements subis par la paroi intestinale 10

1. Observations histologiques 11

2. Variations de la population cellulaire des deux épithéliums ..13

3. Evolution des surfaces des assises pariétales 15

C. Dynamique des phénomènes histogénétiques 16

1. Analyses radioautographiques 16

2. Etudes biochimiques 19

DISCUSSION 21

II - PHENOMENES HISTOGENETIQUES, APRES TRAITEMENT PAR LA THYROXINE ...26

A. Le tractus digestif, organe-cible de la thyroxine 27

1. Séquence des transformations morphologiques 27

2. Données morphométriques 28

B. Remaniements histologiques induits 28

1. Dualité de la réponse épithéliale 28

2. Comparaison des effets de la thyroxine sur les divers tissus de la paroi intestinale 29

C. Induction des phénomènes histogénétiques par la thyroxine 30

1. Incorporation de thymidine tritiée 30

2. Analyse de la synthèse d'ADN intestinal 32

DISCUSSION 34

III - PHENOMENES HISTOGENETIQUES APRES ACTION CONJUGUEE DES RAYONS X ET DE LA THYROXINE 37

A. Effets des rayons X sur les tissus de la paroi intestinale 38

1. Etude au microscope photonique 38

2. Observations ultrastructurales 38

B. Effets de l'action des rayons X suivie d'un traitement par la thyroxine 38
1. Modifications cytologiques 38
2. Conséquences physiologiques 38
C. Effets de l'irradiation précédée et suivie d'un traitement par la thyroxine 41
1. Microscopie photonique 41
2. Microscopie électronique 41
DISCUSSION 42
CONCLUSION 45

CHAPITRE II - DIFFERENCIATION DES CELLULES SOUCHES EN EPITHELIOCYTES ABSORBANTS 48

I - BORDURE EN BROSSE INTESTINALE ET ENZYMES DIGESTIVES 50

A. Activités spécifiques des enzymes digestives 50
1. Variations en métamorphose spontanée 50
2. Variations en métamorphose induite 51
B. La membrane des microvillosités 52
1. Formation des microvillosités 52
2. Isolement et purification de la membrane des microvillosités . 53
3. Comparaison des compositions enzymatiques de la "bordure en brosse" larvaire et adulte 55
C. Evolution des protéines de la "bordure en brosse" intestinale ... 56
1. Evolution du profil protéique au cours du développement 57
2. Evolution du profil glycoprotéique 58
3. Etude du profil et des caractères enzymatiques au cours du développement 58
DISCUSSION 61
CONCLUSION 68

II - MICROPEROXYSOMES, PEROXYSOMES ET CATALASE 70

A. Ontogenèses des microperoxysomes intestinaux 71
1. Développement post-embryonnaire de Rana catesbeiana et d'Alytes obstetricans 71
2. Développement post-embryonnaire de Xenopus laevis 72

B. Variations de l'activité catalasique intestinale 73
1. Evolution au cours du développement spontané 73
2. Evolution lors du développement induit 74
C. Généralisation 75
1. Métamorphose naturelle 75
2. Evolution de l'activité catalasique dans le foie et le rein lors d'une métamorphose induite 77
DISCUSSION 78
CONCLUSION 84

DISCUSSION GENERALE 87

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 101

RESUME 106

BIBLIOGRAPHIE 114

-::-::-

LISTE DES PUBLICATIONS

(1) Remaniements de l'intestin des larves du Crapaud-accoucheur (Alytes obstetricans) lors d'une métamorphose spontanée ou induite par la thyroxine. Etude morphométrique et évolution du rapport protéines/ADN.
Dauça, M. et Hourdry, J., 1981 a. C. R. Acad. Sc. Paris, 292, 69-72.

(2) Cytological and cytochemical changes in the intestinal epithelium during anuran metamorphosis.
Hourdry, J. et Dauça, M., 1977. Internation. Rev. Cytol., supplt 5, 337-385.

(3) Isolement de l'épithélium intestinal chez le Crapaud-accoucheur à l'état larvaire ou juvénile.
Dauça, M. et Hourdry, J., 1978 a. Biol. Cell., 33, 85-88.

(4) Analyse quantitative des remaniements intestinaux et évolution de la synthèse de l'ADN. Etude chez les larves d'Alytes obstetricans et de Discoglossus pictus (Amphibiens Anoures) en métamorphose spontanée.
Dauça, M. et Hourdry, J., 1978 b. Biol. Cell., 31, 277-286.

(5) Effets in vivo et in vitro de la thyroxine sur l'épithélium intestinal des Amphibiens Anoures.
Dauça, M., Hourdry, J. et Pouyet, J.C., 1976. Bull. Soc. Zool. Fr., 101, 75-79.

(6) Analyse quantitative des remaniements intestinaux et évolution de la synthèse de l'ADN; Etude chez les larves d'Alytes obstetricans (Amphibien Anoure) traitées par la thyroxine.
Dauça, M. et Hourdry, J., 1977, Wilhelm Roux's Archives, 183, 119-129.

(7) Variations de l'activité spécifique de l'ADN intestinal chez la larve d'Alytes obstetricans (Amphibien Anoure) traitée par la thyroxine.
Dauça, M. et Hourdry, J., 1978 c. C. R. Acad. Sc. Paris, 286, 973-975.

(8) Conjugated effects of thyroxine and X-rays on the intestinal wall of Alytes obstetricans larvae (Anuran Amphibian).
Dauça, M. et Hourdry, J., 1979 a. Cell. Tissue Res., 204, 279-291.

(9) Amphibian intestinal brush border enzymes during thyroxine-induced metamorphosis. A biochemical and cytochemical study.
Dauça, M., Hourdry, J., Hugon, J.S. et Ménard, D., 1980 a. Histochemistry, 70, 33-42.

(10) Amphibian intestinal brush border membranes. I. Isolation from Rana catesbeiana tadpole.
Dauça, M., Hourdry, J., Hugon, J.S. et Ménard D., 1979 b. Comp. Biochem. Physiol., 64 B, 155-159.

(11) Amphibian intestinal brush border membranes. II. Isolation from Rana catesbeiana adult.
Dauça, M., Hourdry, J., Hugon, J.S. et Ménard, D., 1980 b. Comp. Biochem. Physiol., 66 B, 111-115.

(12) Amphibian intestinal brush border membranes. III. Comparison during metamorphosis of the protein, glycoprotein and enzyme patterns after gel electrophoretic separation of SDS-solubilized membranes.
Dauça, M., Hourdry J., Hugon, J.S. et Ménard, D., 1981 b. Comp. Biochem. Physiol., 69 B, 15-22.

(13) Development of peroxisomes in Amphibians. I. Cytochemical and biochemical studies on the small intestine.
Dauça, M., Calvert, R., Ménard, D., Hugon, J.S. et Hourdry, J., 1982. J. Exp. Zool. (sous-presse).

(14) Development of peroxisomes in Amphibians. II. Cytochemical and biochemical studies on the liver, kidney and pancreas.
Dauça, M., Calvert, R., Ménard, D., Hugon, J.S. et Hourdry, J.
J. Exp. Zool. (Comité de lecture).

INTRODUCTION

La métamorphose des Amphibiens Anoures constitue dans le développement des larves, une crise de courte durée que marquent d'importants changements du plan d'organisation, du mode de vie et éventuellement de l'habitat de l'animal. Les têtards microphages et dulçaquicoles de la plupart des Anoures deviennent des juvéniles carnivores et terrestres.

Si l'émergence des membres antérieurs et la régression caudale qui marquent le paroxysme de la métamorphose ou climax, sont particulièrement spectaculaires, d'autres évènements ne le sont pas moins. Ainsi, les transformations morphologiques, histologiques et biochimiques subies par les différentes parties du tractus digestif (cavité buccale, pharynx, oesophage, régions gastrique et intestinale) et par ses glandes annexes (glandes buccales, foie, pancréas) sont d'autant plus importantes qu'elles constituent un prélude indispensable au changement de régime alimentaire. Ces remaniements post-embryonnaires reflètent très souvent d'importants processus histolytiques et histogénétiques, et sont provoqués par des variations à la fois qualitatives et quantitatives de diverses molécules spécialisées.

C'est ainsi que les évènements de la métamorphose entraînent un profond remodelage de la tête dont la bouche se fend largement au fur et à mesure que la cavité buccale s'agrandit. Au niveau de cette cavité, des formations typiquement larvaires disparaissent : "bec corné" du têtard, phanères en forme de dents produits par la kératinisation de la face interne des lèvres, ensemble des filtres branchiaux qui, chez certaines larves assurent la rétention des particules alimentaires. De nouvelles structures apparaissent telles de vraies dents d'origine dermo-épidermique, et une langue développée, préhensile (sauf chez les Aglosses : pipa, Xenopus...). Les branchies, les fentes branchiales et l'appareil filtrant disparaissent du pharynx de sorte que la participation de cette région dans la respiration disparaît et qu'elle ne permet plus désormais un régime microphage. Des glandes associées à la cavité buccale (glandes palatine et intermaxillaire) apparaissent chez les espèces qui passent sur terre en fin de métamorphose, alors qu'elles ne se rencontrent pas chez les formes qui demeurent aquatiques. Peu de modifications structurales affectent l'oesophage, si ce n'est une augmentation de la fréquence des cellules muqueuses caliciformes dans la partie postérieure de l'organe.

La région gastrique est au contraire profondément remaniée au cours de la métamorphose. Indistinct morphologiquement de l'oesophage et de l'intestin chez la larve, l'estomac s'individualise au climax par dilatation,et bascule sur le côté droit entraînant le pancréas dans son mouvement. Des phénomènes d'histolyse et d'histogenèse s'y manifestent. Les épithéliocytes ciliés de type "oesophagien" disparaissent, tandis que des glandes séreuses tubuleuses à collet muqueux se développent à partir de cellules souches situées à la base des épithéliocytes gastriques. Dès la fin du climax, les glandes gastriques deviennent fonctionnelles et sécrètent abondamment pepsine et acide chlorhydrique ainsi que des chitinases qui préparent à l'adaptation au régime insectivore. Le pancréas subit une diminution de son volume par suite d'une dégénérescence partielle qui affecte à la fois la glande intrapancréatique, du moins quand celle-ci existe, et les formations exocrines (Atkinson et Little, 1972; Beaumont, 1976). Il en résulte une baisse de la sécrétion d'amylase. En fin de climax, la sécrétion d'amylase pancréatique reprend et celle de trypsine apparaît. Contrairement au pancréas, le foie augmente de volume au climax sous la double action d'une hyperplasie et d'une hypertrophie des hépatocytes. Ces cellules subissent au cours de cette période d'importants remaniements ultrastructuraux. La forme de leur noyau devient plus irrégulière et le nombre des nucléoles y augmente. L'ergastoplasme plus abondant est fréquemment en étroite relation avec de volumineuses mitochondries (Bennett et Glenn, 1970; Spiegel et Spiegel, 1970). Les activités spécifiques des enzymes du cycle de l'uréogénèse (cycle de l'ornithine-urée ou de Krebs-Henseleit) s'accroissent considérablement et assurent le changement de mode d'excrétion azotée (Cohen et coll., 1978). Dans les hépatocytes, la synthèse de l'albumine (Feldhoff, 1971; Ledford et Frieden, 1973), de la céruloplasmine et d'autres protéines plasmatiques est également stimulée, ce qui entraîne une élévation sensible de leur concentration dans le sang.

De toutes les régions du tractus digestif remaniées au cours de la métamorphose, l'intestin est certainement celle dont le remodelage est le plus spectaculaire. Il se déspiralise et subit un raccourcissement considérable. Son épithélium initial ou primaire dégénère complètement et est remplacé par une assise de néoformation ou épithélium secondaire.

* Les phénomènes lytiques survenant dans l'intestin ont été signalés par maints auteurs (Bataillon, 1891; Morse, 1918; Kuntz, 1924; Janes, 1934; Joly, 1937; Bonneville, 1963). L'apparition et l'évolution des lysosomes associés à l'altération des épithéliocytes intestinaux larvaires ont été décrites par Hourdry (1969a; 1971a). Les activités de plusieurs hydrolases lysosomiques ont été visualisées et dosées dans l'épithélium intestinal primaire. Ces activités enzymatiques s'élèvent fortement dans ce tissu au paroxysme de la métamorphose, en relation avec l'apparition de nombreux lysosomes (Hourdry, 1971b, c; 1974). Les mécanismes responsables de l'altération épithéliale ont été analysés en détail dans la thèse de Doctorat d'Etat de J.Hourdry (1972a).

* Par contre, les phénomènes histogénétiques affectant la paroi intestinale des larves d'Anoures en métamorphose ont été moins étudiés que les processus lytiques. Aussi, nous nous sommes intéressés au cours du présent travail, au remplacement de l'assise épithéliale. Le développement de l'épithélium intestinal secondaire est assuré au climax par la prolifération intense de cellules à caractères embryonnaires, apparues précocément sous l'épithélium primaire. Les évènements de la métamorphose déclenchent un réveil de leur activité mitotique. Ces cellules souches et leurs cellules-filles ont été dénombrées et la surface qu'elles occupent a été mesurée, à différents stades du développement post-embryonnaire. Les phénomènes histogénétiques ont également été localisés et leur intensité a été déterminée par des techniques radioautographiques, à l'aide de la thymidine tritiée. Les variations de l'activité spécifique de l'ADN intestinal ont aussi été recherchées au cours de ces évènements.

* Depuis les travaux de Gudernatsch (1912), il est classiquement admis que la métamorphose des Amphibiens est déclenchée par une élévation de l'activité thyroïdienne. Il nous a donc paru opportun d'analyser les effets de la thyroxine sur la prolifération des cellules souches intestinales, en modifiant expérimentalement le taux de cette hormone circulant dans le milieu intérieur des larves. Les cellules embryonnaires étant particulièrement radiosensibles, nous avons également analysé les conséquences de l'action conjuguée de la thyroxine et des rayons X sur les phénomènes histogénétiques.

La plupart des évènements de la métamorphose, à quelque niveau qu'ils se situent préparent un changement d'habitat des animaux et le passage du milieu aquatique au milieu aérien. Ainsi, le développement des membres et

la régression de la queue sont compatibles avec un mode de locomotion terrestre. Le caractère adaptatif de la transition de l'hémoglobine des Amphibiens est également évident (McCutcheon, 1936; Riggs, 1951; Frieden et Just, 1970; Just et coll., 1973; Cohen et coll., 1978; Broyles, 1981). Par son affinité élevée pour l'oxygène, l'hémoglobine du têtard est parfaitement adaptée au milieu aquatique dont la pression partielle en oxygène est faible. Au contraire, l'hémoglobine des adultes dont l'affinité pour l'oxygène est faible, libère ce gaz plus facilement au niveau des tissus, ce qui convient parfaitement à des animaux dont les besoins énergétiques sont plus grands. De même, la synthèse accrue de l'arginase, de la carbamyl phosphate synthétase I, et de diverses autres enzymes du cycle de l'uréogénèse (Cohen et coll., 1978) entraîne l'excrétion d'azote sous la forme d'urée non toxique (uréotélie). Elle permet aussi l'élimination d'une urine plus concentrée mais moins abondante, en relation avec une préservation plus efficace de l'eau (Frieden et Just, 1970; Wixom et coll., 1972; Cohen et coll., 1978). La vie amphibie entraîne une extension du biotope de l'animal métamorphosé. La conquête du nouvel habitat s'accompagne pour cet individu de la recherche de nouveaux types de nutriments (Kenny, 1969). En effet, à l'issue de la métamorphose survient chez les Anoures, un changement de régime alimentaire qui coïncide avec la substitution de l'épithélium intestinal. Les larves des Anoures sont pour la plupart microphages (Xenopus laevis, Pelobates fuscus, Hyla arborea...), d'autres herbivores ou détritivores (Rana temporaria, Rana catesbeiana, Discoglossus pictus, Bufo bufo...), plus rarement macrophages et prédatrices (Hymenochirus boettgeri) ou cannibales (Lechriodus fletcheri). Pendant la crise de la métamorphose, l'épithélium intestinal primaire dégénère et les larves d'Anoures cessent de s'alimenter. Elles tirent alors leur énergie de la dégradation des lipides du corps adipeux, de l'utilisation du glycogène hépatique et probablement du recyclage des acides aminés libérés par l'involution des tissus larvaires. Tandis que se met en place l'épithélium intestinal secondaire villeux, l'individu juvénile nouvellement métamorphosé cesse d'être détritivore et devient carnivore ou insectivore. Ces considérations nous ont amené à analyser les caractères structuraux et fonctionnels propres aux épithéliocytes intestinaux secondaires issus de la prolifération et de la différenciation des cellules souches, et à les comparer à ceux des épithéliocytes larvaires. Notre travail n'a concerné que les épithéliocytes absorbants qui représentent la population cellulaire la plus importante de l'épithélium intestinal. Nos investigations

ont été menées dans deux directions différentes :

* Dans un premier temps, nos recherches ont porté sur les hydrolases digestives responsables des fonctions de digestion et d'absorption. Les variations de leurs activités ont été précisées au cours de la métamorphose spontanée et induite par la thyroxine. Ces enzymes étant principalement intégrées à la structure de la membrane des microvillosités, cette dernière a été isolée et purifiée. La composition enzymatique de la "bordure en brosse" intestinale des larves et adultes d'Anoures a pu être ainsi comparée. Dissociées de leur support membranaire, les protéines de la "bordure en brosse" intestinale ont été discriminées par électrophorèse en gel de polyacrylamide. L'évolution du profil électrophorétique des protéines, des glycoprotéines et des enzymes de la membrane des microvillosités a pu être suivie au cours de la métamorphose naturelle.

* Le dernier volet de ce travail a concerné le comportement ontogénique post-embryonnaire des microperoxysomes intestinaux des larves d'Anoures, durant leurs métamorphoses naturelle et induite. Depuis les premières découvertes des peroxysomes dans les cellules rénales des tubules proximaux (Rhodin, 1954) puis dans les hépatocytes des Mammifères (Gansler et Rouiller, 1956; Rouiller et Bernhard, 1956), la présence de ces organites cytoplasmiques a été détectée aussi bien dans les organismes unicellulaires aérobies (De Duve et Baudhuin, 1966; Breidenbach et Beevers, 1967; Müller et coll., 1968) que dans de nombreux types cellulaires de Métaphytes (Beevers, 1969; Tolbert, 1971; Vigil, 1973) et de Métazoaires (revue de Böck et coll., 1980). Ces organites cytoplasmiques limités par une membrane unique sont de forme et de taille (0,1-1 µm de diamètre) variables. Ils renferment au moins une oxydase génératrice de peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) et une catalase qui décompose ce produit toxique pour la cellule (De Duve, 1969b, 1973; Tolbert, 1971; Böck et coll., 1980). Sur la base de leur morphologie, de leur composition enzymatique et de leurs fonctions métaboliques, trois catégories de peroxysomes ont été distinguées : les peroxysomes sensu stricto, les glyoxysomes et les microperoxysomes (Masters et Holmes, 1977). Caractérisés par une taille plus faible, les microperoxysomes ont été détectés dans de nombreux tissus de Vertébrés (Böck et coll., 1980). Leur existence est démontrée dans l'épithélium intestinal des Mammifères (Novikoff et Novikoff, 1972; Connock et coll., 1974; Peters, 1976) et des Téléostéens (Connock, 1973; Temple et coll., 1979), mais elle n'a jamais été recherchée dans celui des Amphibiens, or ces organites constituent par leur fréquence, leur morphologie et leurs

activités, d'excellents marqueurs de la différenciation tissulaire chez les animaux en cours de développement (Holmes et Masters, 1978). Les microperoxysomes intestinaux des larves d'Anoures ont été visualisés cytochimiquement grâce à l'activité de leur catalase (Novikoff et Goldfischer, 1969). Leur ontogénèse a été analysée chez des espèces dont la métamorphose s'accompagne ou non d'un changement d'habitat. L'activité de la catalase a été déterminée à divers stades du développement post-embryonnaire naturel et après traitement par la thyroxine. Afin de savoir si les résultats obtenus pour l'épithélium intestinal sont spécifiques de ce tissu ou généralisables à d'autres formations tissulaires, des études similaires ont été entreprises au niveau du foie, du rein et du pancréas.

Les résultats obtenus confirment l'existence de différences structurales et moléculaires entre l'épithélium intestinal du têtard et celui du futur adulte. Certaines des modifications qui apparaissent lors de la métamorphose naturelle ou provoquée sont un prélude au changement de régime alimentaire, d'autres sont conditionnées par le passage de la vie aquatique à la vie terrestre.

REMARQUES PRELIMINAIRES

Les résultats exposés dans les chapitres suivants ont fait l'objet de plusieurs publications reproduites in extenso dans le volume "Articles", et dans lesquelles la méthodologie utilisée est détaillée. Pour chaque citation présente dans le texte (ex : Dauça et Hourdry, 1978c [7]) la date et la lettre qui l'accompagne éventuellement, permettent de retrouver le titre et les références de l'article dans la liste des publications ou dans la bibliographie de ce volume, tandis que le chiffre (ex : 7) indique la position de l'article dans le volume annexe.

Pour la réalisation de ce travail, les larves de quatre espèces d'Amphibiens Anoures ont été utilisées :

- Discoglossus pictus (Otth).
- Alytes obstetricans (Laurenti).
- Xenopus laevis (Daudin).
- Rana catesbeiana (Shaw).

Les larves de Discoglosse proviennent de pontes naturelles obtenues au laboratoire. Les têtards d'Alyte ont été récoltés dans diverses lavognes du Larzac. Les larves et les adultes de Rana catesbeiana et de Xenopus laevis ont été fournis par McNally (Wisconsin, U.S.A.).

Le degré de développement des larves de Discoglossus pictus, d'Alytes obstetricans et de Rana catesbeiana est apprécié à l'aide de la table de Taylor et Kollros (1946) établie pour Rana pipiens et numérotée de 0 à XXV. Au cours de la prémétamorphose, période qui correspond aux stades I-XI, les membres postérieurs demeurent rudimentaires. Des ébauches de doigts y apparaissent. Les stades XII-XIX concernent la prométamorphose caractérisée par le développement des membres postérieurs et la régression du tube cloacal. Ce dernier a complètement disparu au stade XVIII. A partir du stade XIX, les membres antérieurs deviennent saillants sous la peau. Le climax ou paroxysme de la métamorphose se situe entre les stades XX et XXV : un membre antérieur, généralement le membre gauche, apparaît (XX), puis l'autre (XXI). La régression de la queue amorcée dès le stade XX est complète au stade XXV. L'individu est désormais un juvénile qui chez Discoglossus pictus, Alytes obstetricans comme chez Rana catesbeiana, passe en milieu terrestre.

Chez les larves de Xénope, le degré de développement est déterminé au moyen de la table de Nieuwkoop et Faber (1967). La prémétamorphose, la prométamorphose et le climax correspondent respectivement aux stades 1-55, 56-59 et 60-66. Les juvéniles, nouvellement métamorphosés, comme les adultes demeurent en milieu aquatique .

CHAPITRE I

PROLIFERATION DES CELLULES EMBRYONNAIRES DE L'EPITHELIUM INTESTINAL LARVAIRE.

Sous l'épithélium intestinal primaire des larves d'Anoures, il est possible de distinguer des cellules embryonnaires isolées, bien avant que les évènements de la métamorphose ne soient déclenchés. Au climax, la prolifération de ces cellules souches assure le remplacement de l'assise épithéliale et donne naissance au futur épithélium villeux de l'adulte. Les phénomènes histogénétiques affectant l'intestin ont été étudiés au cours du développement post-embryonnaire naturel des larves d'Anoures. Les conséquences du traitement des larves par la thyroxine (ou T_4) seule ou conjuguée au rayonnement X ont été aussi recherchées sur le développement de l'épithélium intestinal secondaire.

I - PHENOMENES HISTOGENETIQUES AU COURS DU DEVELOPPEMENT NATUREL.

Pour ce travail, les expériences ont été réalisées sur des larves de Discoglossus pictus et d'Alytes obstetricans. Les larves sont élevées au laboratoire, à la température de 20°C ± 1°C et nourries ad libitum.

A. Modifications morphologiques du tractus digestif.

Les remaniements affectant le tube digestif des Amphibiens Anoures sont spectaculaires au cours de la métamorphose spontanée (Planche I). Rares, en effet, sont les organes dont la morphologie subit des transformations aussi évidentes au paroxysme de la métamorphose.

1. Description des transformations morphologiques.

Les larves d'Anoures en prémétamorphose (stades I-XI) ou en prométamorphose (stades XII-XIX; Planche I, a) sont caractérisées par un tractus digestif long, spiralé et de diamètre important. Au cours de ces périodes, les différentes parties du tube digestif ne sont pas nettement individualisées. La morphologie de la région gastrique ne diffère pas sensiblement de celle de l'intestin.

Le début du climax (stades XX-XXI) révèlé par la sortie du membre antérieur gauche suivie de celui de droite (Planche I, d) est marqué par un

PLANCHE I

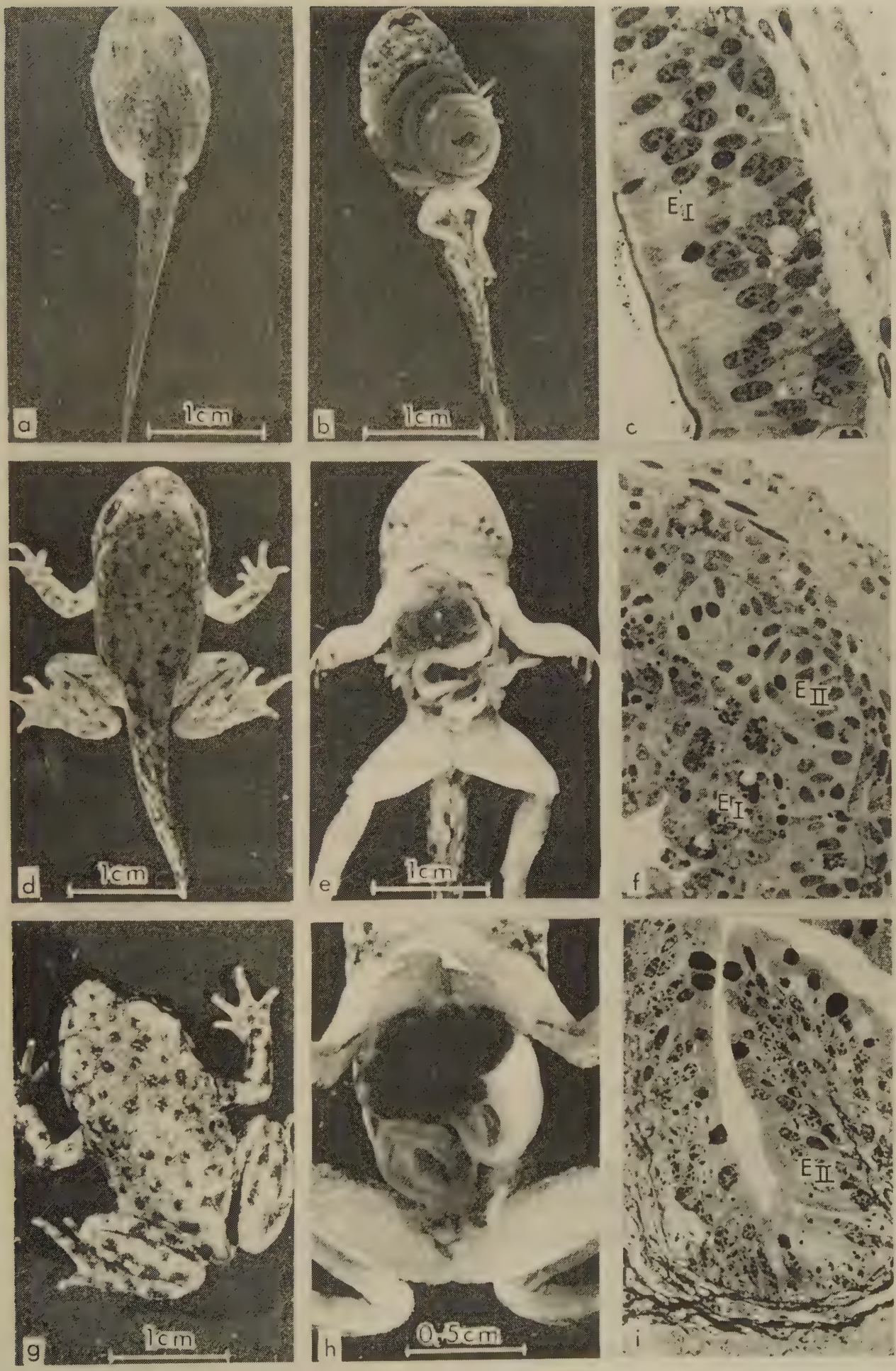
TRANSFORMATIONS MORPHOLOGIQUES, ANATOMIQUES ET HISTOLOGIQUES AU COURS DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE D'ALYTES OBSTETRICANS.

fig. a, b et c. Stade XII (T.K.).
L'intestin est long et spiralé. Sa paroi est essentiellement composée d'un épithélium primaire (E_1), non villeux. x 2 (fig. a). x 2 (fig. b). x 800, Glut. OsO_4.phosphate (fig. c).

fig. d, e et f. Stade XXI (T.K.).
Au climax de la métamorphose, les membres antérieurs apparaissent. La régression de la queue débute. L'estomac s'individualise, tandis que l'intestin devient court. Sous l'épithélium intestinal primaire en lyse (E_1), la multiplication des cellules embryonnaires engendre la formation d'une nouvelle assise (E_2). x 2 (fig. d). x 2 (fig. e). x 350, Glut. OsO_4.phosphate (fig. f).

fig. g, h et i. Stade XXV (T.K.).
L'involution caudale est achevée. L'estomac et l'intestin sont désormais nettement distincts. Les débris de l'épithélium intestinal primaire ont été éliminés dans la lumière de l'organe. L'épithélium intestinal secondaire (E_2) prend un aspect villeux, caractéristique de l'adulte. x 2 (fig. g). x 4 (fig. h). x 450, Glut. OsO_4.phosphate (fig. i).

NB : Sur les légendes des micrographies, la table de développement de Taylor et Kollros est désignée par T.K.


a
1cm
b
1cm
c
E I
d
1cm
e
1cm
f
E II
E I
g
1cm
h
0,5cm
i
E II

raccourcissement spectaculaire du tube digestif qui perd sa disposition spiralée (Planche I, e). L'estomac s'individualise (Forte et coll., 1969) et bascule à gauche, en entraînant le pancréas lui-même profondément remanié (Atkinson et Little, 1972; Beaumont, 1976).

En post-climax (stade XXV), la queue a complètement disparu (Planche I, g). L'estomac dilaté se distingue désormais très nettement de l'intestin. La limite entre les deux organes est marquée par la région pylorique facilement reconnaissable (Planche I, h).

2. Conséquences morphométriques.

Les remaniements morphologiques du tractus digestif ont fait l'objet de nombreuses descriptions chez les larves d'Anoures. Par contre, peu de travaux fournissent des renseignements morphométriques à propos de ces remaniements (Carver et Frieden, 1977; Sumiya et Horiuchi, 1980). Dans un premier temps, nous nous sommes par conséquent intéressés aux variations présentées par les paramètres suivants : poids total de l'animal (P.T), poids de l'intestin (P.I), longueur de cet organe (L.I), longueur de la queue (L.Q) et par les rapports P.I/P.T et L.I/L.C (avec L.C = longueur du corps). Les mesures réalisées chez les larves du Crapaud-accoucheur (Alytes obstetricans) montrent que tous ces paramètres subissent une forte diminution au cours de la métamorphose spontanée (Planche II; Dauça et Hourdry, 1981a [1]). Rapporté à la longueur initiale de l'intestin larvaire, le raccourcissement constaté chez Alytes obstetricans correspond à une diminution de l'ordre de 94 %, alors qu'elle est d'environ 84 % chez Rana catesbeiana (Carver et Frieden, 1977). L'involution intestinale est particulièrement précoce. Amorcée au stade XVIII, soit en fin de prométamorphose, elle atteint son paroxysme au stade XXII. Dès que le juvénile terrestre recommence à s'alimenter, le poids et la longueur de l'intestin augmentent. La réduction caudale est plus tardive et ne devient apparente qu'à partir du stade XX.

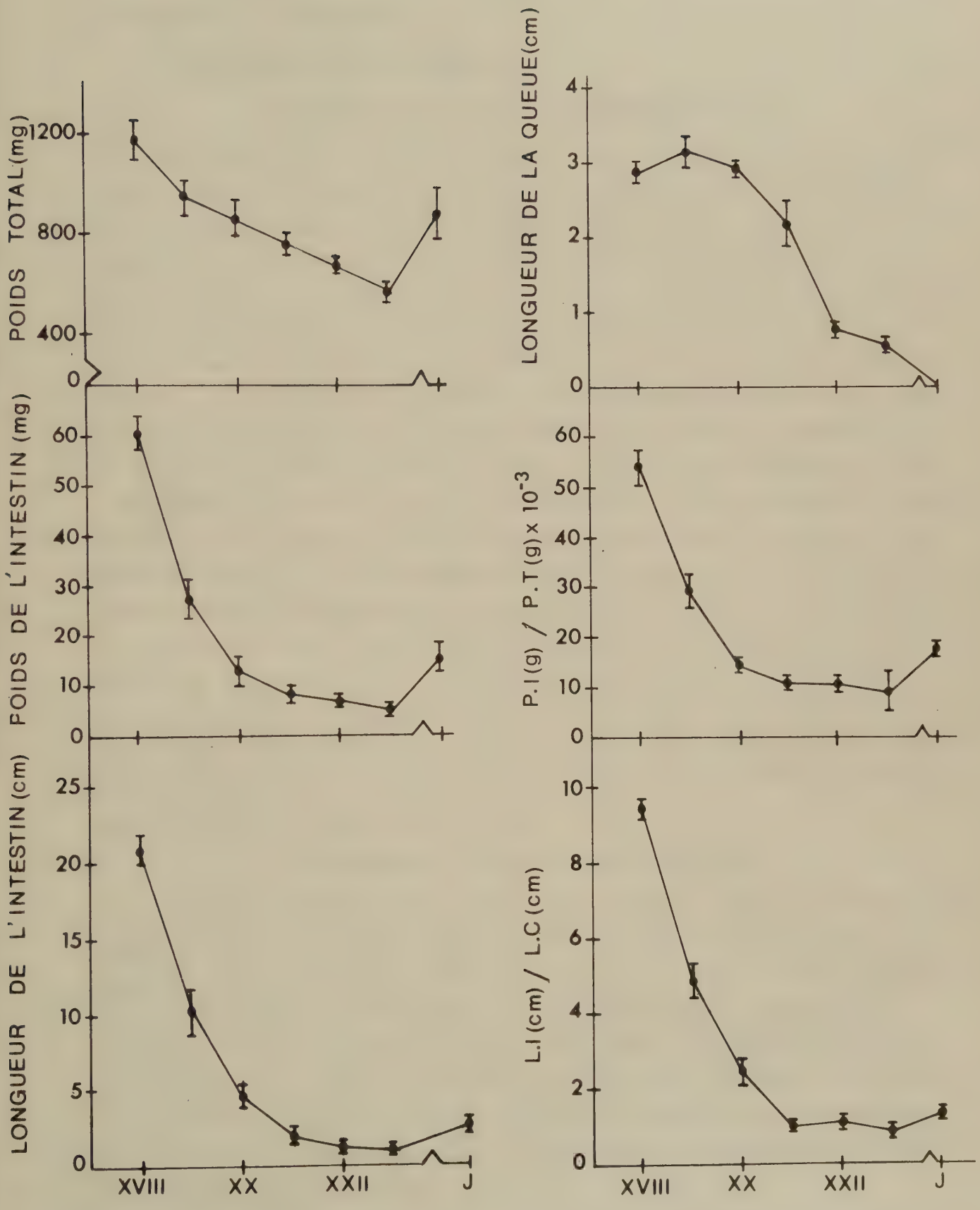
B. Remaniements subis par la paroi intestinale.

Les transformations morphologiques de l'intestin sont provoquées par d'importants remaniements histologiques (Planche I, c, f et i). Ces derniers affectent les diverses assises de la paroi intestinale et plus particulièrement l'épithélium, lequel subit des phénomènes d'histolyse et d'histogenèse (Planches III, a, b; IV, a et b). L'épithélium larvaire ou primaire dégénère tandis que l'épithélium secondaire du futur adulte se met en place. La dégénérescence de l'épithélium larvaire sera brièvement rappelée. Les

PLANCHE II

ETUDE MORPHOMETRIQUE DES REMANIEMENTS INTESTINAUX.

Les variations des paramètres : poids total (P.T), poids de l'intestin (P.I), longueur de l'intestin (L.I), longueur de la queue, et des rapports : P.I/P.T et L.I/L.C (L.C = longueur du corps) ont été analysées au cours de la métamorphose naturelle des larves d'Alytes obstetricans, du stade XVIII (T.K.) au stade juvénile (J.).


POIDS TOTAL (mg)
1200
800
400
0
LONGUEUR DE LA QUEUE (cm)
4
3
2
1
0
POIDS DE L'INTESTIN (mg)
60
50
40
30
20
10
0
P.I (g) / P.T (g) x 10^{-3}
60
50
40
30
20
10
0
LONGUEUR DE L'INTESTIN (cm)
25
20
15
10
5
0
L.I (cm) / L.C (cm)
10
8
6
4
2
0
XVIII
XX
XXII
J
XVIII
XX
XXII
J

phénomènes histogénétiques affectant l'épithélium intestinal au climax seront décrits et quantifiés.

1. Observations histologiques.

a - Dégénérescence de l'épithélium primaire.

Elle débute dès le stade XVIII par l'accroissement du nombre des lysosomes dans le cytoplasme des épithéliocytes primaires (Bonneville, 1963; Hourdry, 1969a). Les activités des enzymes lysosomales augmentent de façon importante, comme le montrent les études cytochimiques (Hourdry, 1971b, c) et biochimiques (Hourdry, 1974). Selon Hourdry (1972a) cette élévation des activités enzymatiques des lysosomes ne peut pas s'expliquer par l'intervention simultanée d'activateurs. Elle serait plutôt le résultat d'une néosynthèse des différentes hydrolases. Suite à une modification de la perméabilité (Giunta et coll., 1972; Kane et coll., 1980) ou à une rupture de la membrane des lysosomes au climax, les hydrolases contenues par ces organites diffusent alors dans le hyaloplasme où elles engendrent des foyers de nécrose. Le matériel cytoplasmique est ségrégé dans des vacuoles autolytiques où il est progressivement dégradé (Hourdry, 1971a). Ces phénomènes dégénératifs se traduisent aussi par des modifications de l'apex cellulaire. La "bordure en brosse" des cellules absorbantes devient de plus en plus irrégulière, tandis que les microvillosités disparaissent. Le terme de cette involution est marqué par une rupture de la cytomembrane qui s'accompagne alors d'une élimination dans la lumière intestinale du contenu des cellules dégradées (Planches I, f; et III, b). A la fin du stade XXI, les épithéliocytes primaires ont tous disparu.

b - Caractères des îlots sous-épithéliaux.

L'existence de cellules embryonnaires isolées (cellules souches) a été signalée sous l'épithélium intestinal de nombreuses larves d'Anoures : Bufo lentiginosus (Bowers, 1909), Rana clamitans (Janes, 1934), Xenopus laevis (Bonneville, 1963; McAvoy et Dixon, 1977) Alytes obstetricans (Hourdry, 1969b), Rana temporaria (Kopéc, 1970) et Discoglossus pictus (Hourdry et Dauça, 1977 [2]). Au stade XIX, les cellules souches s'agencent en petits îlots repérables sous l'épithélium larvaire en dégénérescence, et séparés les uns des autres par l'emplacement d'une dizaine d'épithéliocytes primaires prismatiques.

Le caractère embryonnaire des cellules souches basales est confirmé par leur rapport nucléoplasmique élevé (Planche III, b). La mince frange

PLANCHE III

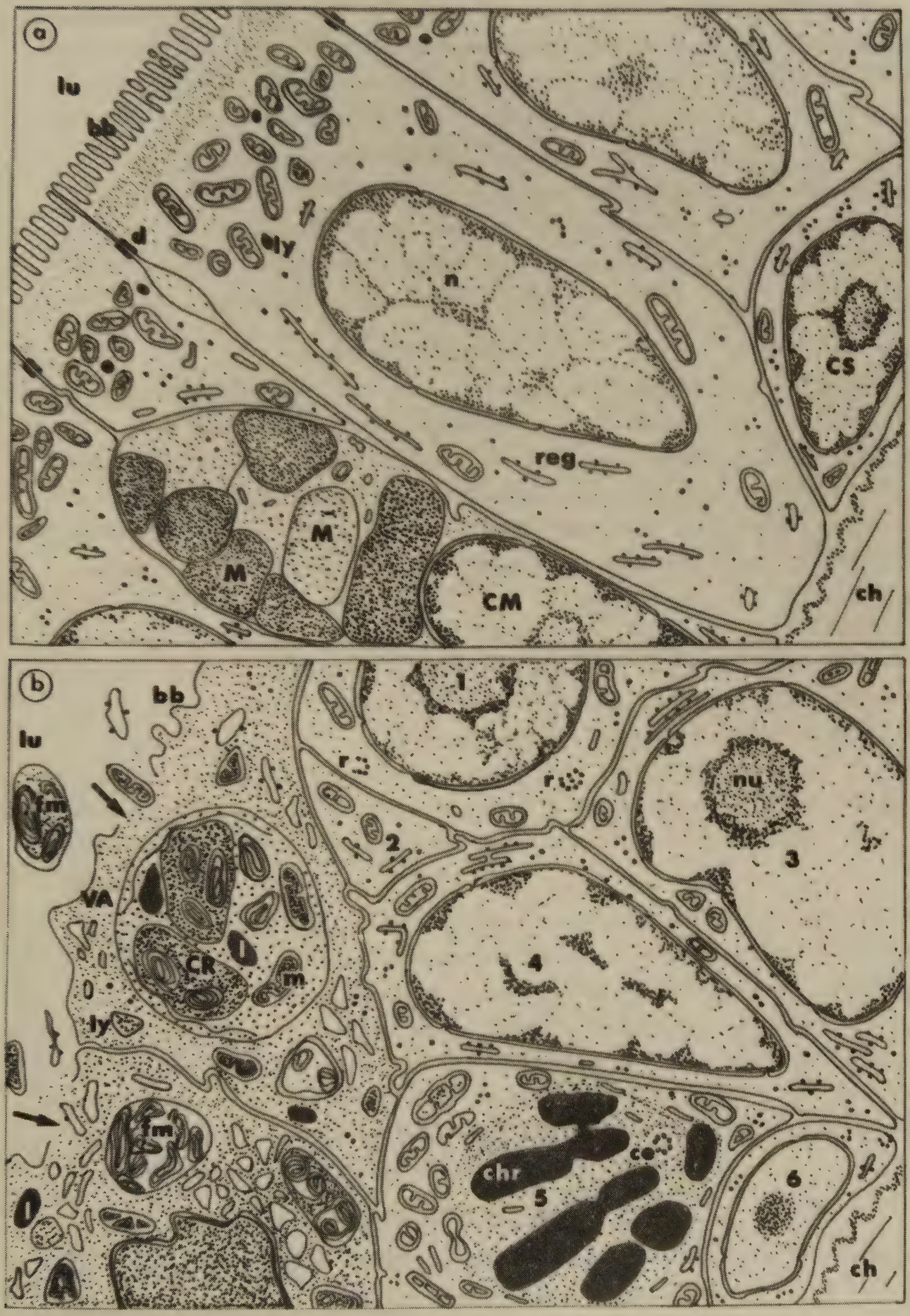
REMANIEMENTS HISTOLOGIQUES DE L'EPITHELIUM INTESTINAL.

fig. a. Aspect de l'épithélium primaire en prémétamorphose.

fig. b. Epithélium au climax de la métamorphose (stades XX-XXI, T.K.). L'épithélium larvaire dégénère. Sa "bordure en brosse" a disparu. Le contenu des épithéliocytes primaires est libéré dans la lumière intestinale (lu) après rupture de la membrane plasmique apicale (flèches). Le développement de l'épithélium secondaire est amorcé. Six cellules embryonnaires sont représentées, dont l'une (cellule 5) est en mitose.

Abréviations :

bb, "bordure en brosse"; ce, centriole; ch, chorion; chr, chromosome; CM, cellule muqueuse; CR, corps résiduel; CS, cellule souche; d, desmosome; fm, figure myélinique; l, gouttelette lipidique; lu, lumière intestinale; ly, lysosome; m, mitochondrie; M, mucus; n, noyau; nu, nucléole; r, ribosome; reg, réticulum endoplasmique granulaire; VA, vacuole autolytique.


a
lu
d
ly
n
CS
reg
M
M
CM
ch
b
bb
lu
m
VA
CR
m
ly
m
A
1
r
r
2
nu
3
4
chr
5
6
ch

cytoplasmique renferme quelques mitochondries et de rares profils ergastoplasmiques. Elle possède surtout de nombreux ribosomes, responsables de l'affinité de ces cellules pour les colorants basiques.

L'appartenance des cellules souches à l'assise épithéliale est confirmée par le fait qu'elles sont séparées du tissu conjonctif sous-jacent par la membrane basale, et qu'elles demeurent associées aux épithéliocytes larvaires, quand on isole l'épithélium en traitant la paroi intestinale par la collagénase ou l'EDTA (Dauça et Hourdry, 1978a [3]).

c - La "poussée mitotique".

A partir du stade XX, les cellules souches sont le siège d'une multiplication intense. Les figures de mitose deviennent fréquentes. Cette soudaine "poussée mitotique" provoque une augmentation rapide de la taille des îlots sous-épithéliaux. D'abord séparés les uns des autres par quelques épithéliocytes larvaires, les îlots deviennent très vite jointifs et engendrent une pluristratification transitoire. A ce stade, les cellules épithéliales secondaires ne sont pas encore différenciées. Leur cytoplasme contient de nombreux ribosomes souvent disposés en rosettes. Il est parfois possible d'y déceler de petites vacuoles autolytiques ou leurs formes résiduelles à contenu myélinique ou vésiculaire, sites possibles d'un éventuel recyclage du matériel primaire dégradé. La membrane apicale des épithéliocytes secondaires situés au contact de la lumière intestinale, ne dispose pas encore de "bordure en brosse". Les premières microvillosités débutent tout juste leur développement (Bonneville et Weinstock, 1970; Planche IV, a).

Dès le stade XXII, l'épithélium néoformé acquiert sa structure définitive tandis que les cellules augmentent sensiblement de volume. Cet épithélium secondaire devient progressivement villeux et s'oppose morphologiquement à l'épithélium primaire de la larve (Planche I, c, i). Au fur et à mesure que le nombre et la taille des villosités intestinales augmentent, les mitoses se localisent de plus en plus aux seules régions intervillositaires ("nids de prolifération") et l'activité mitotique présente un gradient décroissant de la base au sommet de la villosité.

d - Différenciation des épithéliocytes secondaires.

La mise en place des villosités intestinales résulte de la migration et de la maturation des épithéliocytes secondaires, à partir des "nids de prolifération". La différenciation de ces cellules s'effectue selon trois

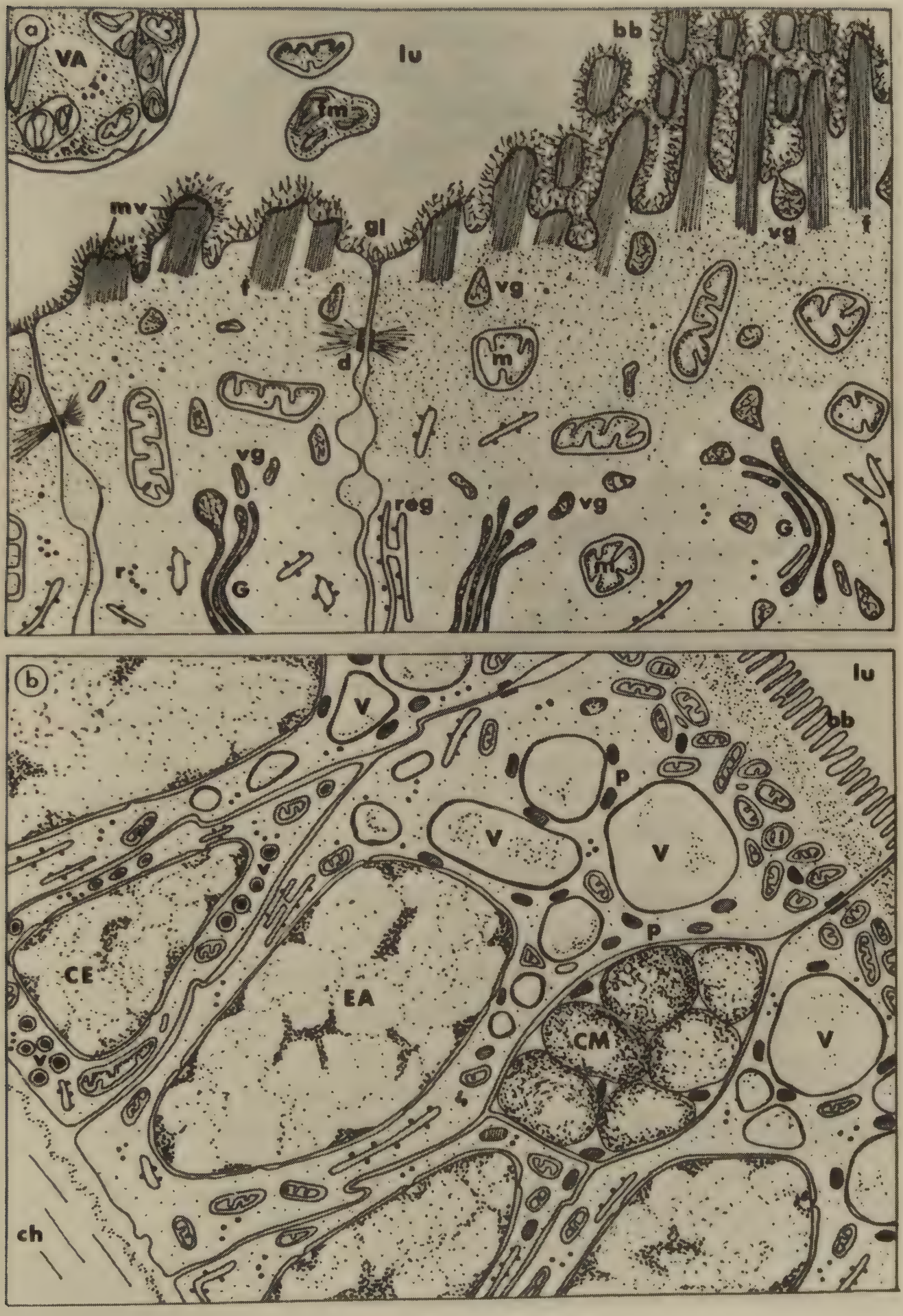
PLANCHE IV

REMANIEMENTS HISTOLOGIQUES DE L'EPITHELIUM INTESTINAL (Suite).

fig. a. Epithélium en fin de climax (stade XXII, T.K.).
Une nouvelle "bordure en brosse" (bb) se différencie à l'apex des épithéliocytes secondaires. Des vésicules golgiennes (vg) entrent en contact avec la cytomembrane apicale. De leur fusion naissent des rudiments de microvillosités (mv). Un squelette filamenteux (f) apparaît.

fig. b. Epithélium secondaire (stade XXII et au-delà, T.K.).
Trois catégories cellulaires sont reconnaissables : épithéliocyte absorbant (EA), cellule muqueuse (CM) et cellule endocrine (CE).

Abréviations :
bb, "bordure en brosse"; CE, cellule endocrine; ch, chorion; CM, cellule muqueuse; d, desmosome; EA, épithéliocyte absorbant; f, filaments; fm, figure myélinique; G, appareil de Golgi; gl, glycocalyx; lu, lumière intestinale; m, mitochondrie; mv, microvillosité; p, peroxysome; r, ribosome; reg, réticulum endoplasmique granulaire; v, vésicule endocrine; V, vacuole; VA, vacuole autolytique.


a
VA
lu
bb
fm
mv
gl
f
vg
d
m
rer
G
r
b
V
p
CE
EA
CM
ch

directions conduisant à l'apparition d'épithéliocytes absorbants, de cellules muqueuses caliciformes et de cellules endocrines (Planche IV, b). Les épithéliocytes absorbants représentent plus de 90 % de la population cellulaire. Leurs caractères ultrastructuraux seront plus particulièrement exposés dans le deuxième chapitre. Indiquons simplement que, dès le stade XXV, leur "bordure en brosse" est différenciée et fonctionnelle. Les cellules muqueuses caliciformes, qui se reconnaissent aisément à leurs volumineuses gouttelettes de sécrétion, sont plus fréquentes à la base des villosités (McAvoy et Dixon, 1978a). La maturation de ces cellules exocrines est définitivement acquise à mi-hauteur des villosités et non à leur sommet comme c'est le cas pour les épithéliocytes absorbants (McAvoy et Dixon, 1978b). Quelques cellules endocrines sont identifiées à leurs petites vésicules denses (Planche XIVc, d; chapitre II). Leur fréquence dans l'épithélium intestinal des Anoures juvéniles ou adultes, quoique faible, est cependant supérieure à celle que l'on relève dans l'épithélium primaire des larves. Il est aussi possible de reconnaître des lymphocytes, des macrophages et divers granulocytes, qui s'infiltrent entre les épithéliocytes intestinaux après avoir traversé la lame basale séparant le chorion de l'épithélium (Chin et Wong, 1977). Une telle infiltration dans l'épithélium digestif a aussi été remarquée chez d'autres Vertébrés (Bullock, 1967; Fichtelius et coll., 1969; Chin et Hudson, 1971).

Avec la différenciation des épithéliocytes secondaires s'achève la mise en place de la nouvelle muqueuse intestinale. A ce stade, l'animal recommence à s'alimenter. Si les processus histogénétiques sont désormais de faible ampleur, ils ne disparaissent toutefois pas. L'épithélium intestinal villeux des Anoures est en effet soumis à un renouvellement constant (McAvoy et Dixon, 1977), analogue à celui que de nombreux auteurs décrivent chez les Mammifères (pour revue, voir Toner et coll., 1971).

2. Variations de la population cellulaire des deux épithéliums.

D'un point de vue histologique, la métamorphose des Anoures se traduit au niveau de l'intestin par le complet remplacement de l'assise épithéliale. Un équilibre semble exister entre la lyse des épithéliocytes larvaires et

la genèse des épithéliocytes secondaires, ces deux phénomènes antagonistes se produisent presque simultanément. Un tel antagonisme a été quantifié en appréciant la fréquence des deux catégories d'épithéliocytes chez la larve puis chez le juvénile (Dauça et Hourdry, 1978 b[4]). Pour chaque période du développement naturel des larves d'Alyte, le pourcentage moyen des épithéliocytes primaires et secondaires a été déterminé à partir de coupes semi-fines transversales, prises en différentes régions de l'intestin (Planche V, a).

En prémétamorphose (stades I-XI) ou au commencement de la prométamorphose (stades XII-XVI) la quasi totalité des épithéliocytes appartient au seul épithélium primaire. Les cellules à caractères embryonnaires sont alors rares et difficilement reconnaissables. Leur présence devient néanmoins évidente dès la fin de la prométamorphose (stades XVII-XIX) quand, après plusieurs mitoses successives elles engendrent de petits îlots cellulaires sous l'épithélium intestinal larvaire. Tandis que le nombre des épithéliocytes secondaires s'accroît, le pourcentage des épithéliocytes primaires s'abaisse en relation avec leur dégénérescence et l'évacuation de leurs débris dans la lumière intestinale. Dès le stade XVIII, les lysosomes deviennent plus nombreux dans les épithéliocytes primaires, et plus volumineux à partir du stade XX. La diffusion des enzymes lysosomales dans le hyaloplasme est rendue possible par une modification de la perméabilité membranaire de ces organites (Gahan, 1967). Elle déclenche la nécrose des épithéliocytes primaires (Hourdry, 1971a, b, c; 1974). Leurs noyaux deviennent pycnotiques. Le contenu des cellules dégradées est finalement libéré dans la lumière intestinale, après rupture de la cytomembrane apicale. Au stade XXI (milieu du climax), les épithéliocytes primaires ont tous disparu. L'épithélium secondaire se met en place par fusion des îlots basaux. Durant cette substitution d'épithélium, l'élimination de l'assise primaire est compensée par le développement de l'assise secondaire, de sorte que la surface interne de l'intestin est à tout moment protégée par un revêtement épithélial, et que la lame basale n'est jamais directement en contact avec le contenu intestinal. Le remplacement de l'épithélium primaire de la larve par l'épithélium secondaire villeux du futur adulte est admirablement orchestré dans le temps et l'espace par la conjonction des processus histolytiques et histogénétiques. La substitution est également rendue possible et harmonieuse par une moindre cohésion entre les deux populations épithéliales. Ce facteur important intervient tardivement dans le déroulement des évènements de la métamorphose.

PLANCHE V

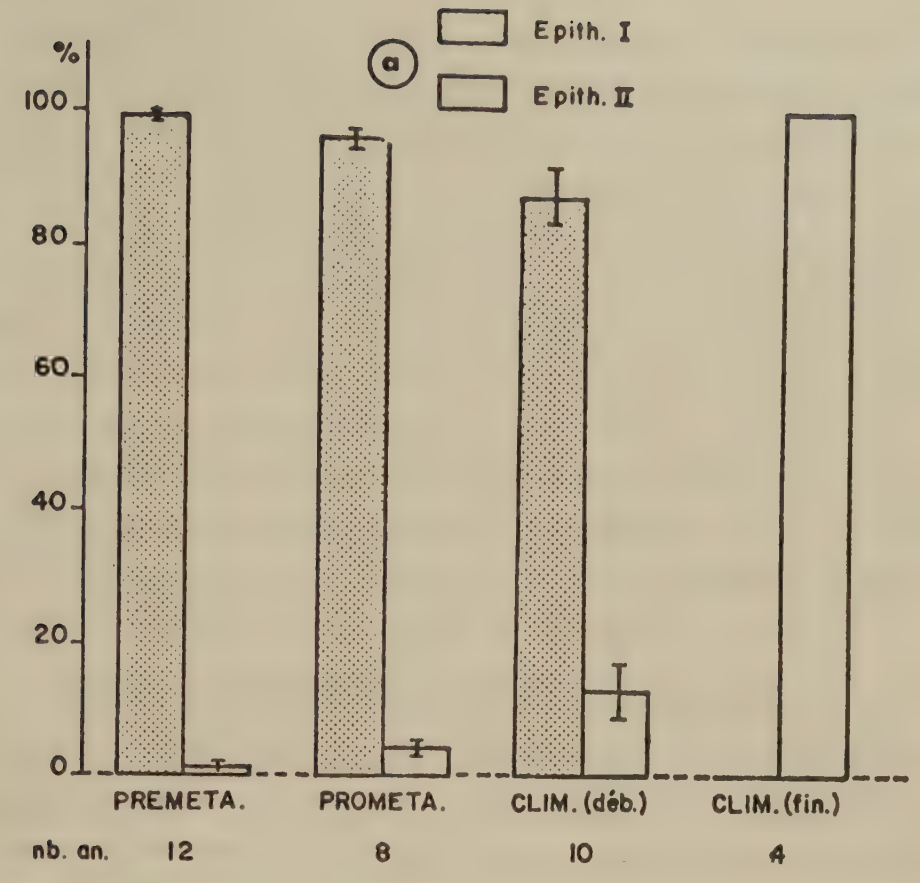
ANALYSES QUANTITATIVES DES REMANIEMENTS INTESTINAUX.

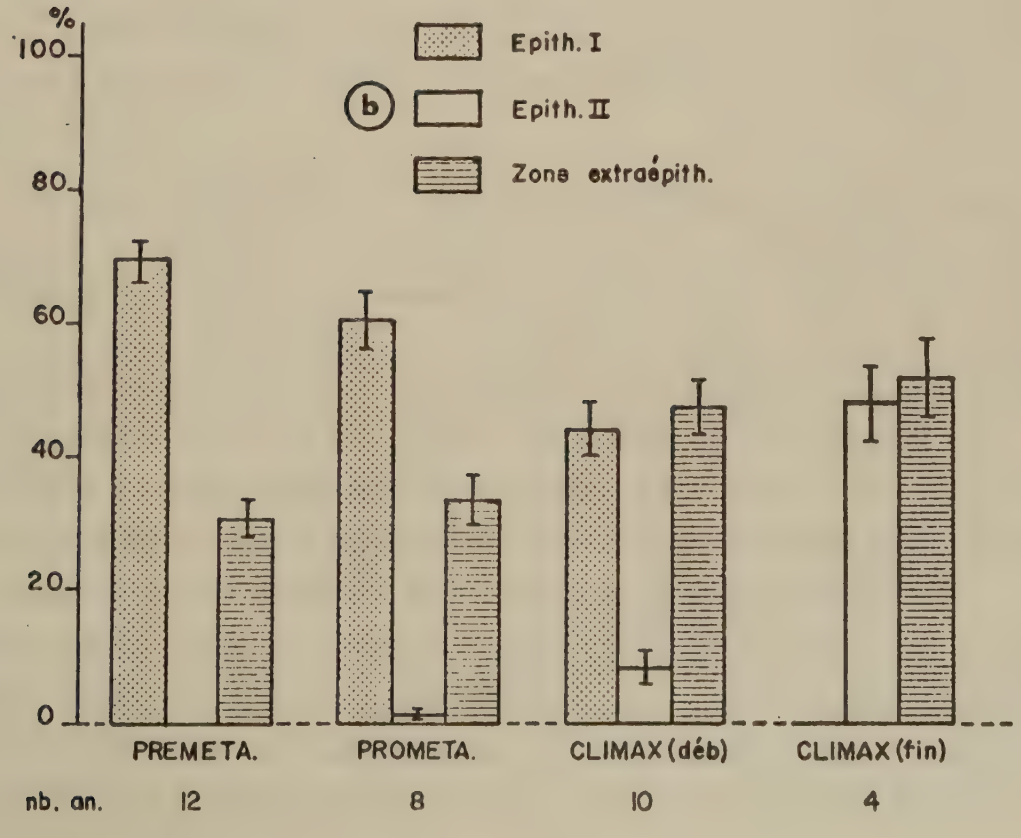
Les études ont été réalisées au cours du développement post-embryonnaire naturel des larves du Crapaud-accoucheur. Les résultats sont exprimés en pourcentages moyens ± erreurs-standard.

fig. a. Evolution de la fréquence nucléaire dans chacune des deux assises épithéliales.

fig. b. Variations subies par les surfaces des différentes zones composant la paroi intestinale. Ces surfaces sont déterminées à partir de coupes transversales de l'intestin.

Abréviations :
Epith. I, épithélium primaire; Epith. II, épithélium secondaire; Zone extraépith, zone extraépithéliale; Préméta, prémétamorphose; Prométa, prométamorphose; Clim (déb), début du climax; nb. an, nombre d'animaux.


a
Epith. I
Epith. II
%
100
80
60
40
20
0
PREMETA.
PROMETA.
CLIM. (déb.)
CLIM. (fin.)
nb. an.
12
8
10
4


b
Epith. I
Epith. II
Zone extraépith.
%
100
80
60
40
20
0
PREMETA.
PROMETA.
CLIMAX (déb)
CLIMAX (fin)
nb. an.
12
8
10
4

Initialement, les cellules souches isolées et les cellules embryonnaires insulaires sont intimement accolées aux épithéliocytes larvaires sus-jacents. Leur cohésion est assurée à la fois par les intrications de leurs membranes cytoplasmiques et par la présence de quelques desmosomes. A ces stades, la dissociation de la paroi intestinale par l'EDTA ou par la collagénase entraîne l'isolement d'un épithélium qui comporte à la fois des épithéliocytes primaires en dégénérescence et des cellules embryonnaires basales en prolifération (Dauça et Hourdry, 1978a [3]). L'intense activité des foyers de prolifération détache progressivement l'épithélium larvaire de la membrane basale et refoule ce tissu vers la lumière intestinale. Au moment de la multiplication et de la différenciation des épithéliocytes secondaires, leurs contacts membranaires avec les épithéliocytes primaires disparaissent, et les deux catégories cellulaires ne se connaissent plus.

3. Evolution des surfaces des assises pariétales.

Au cours de la métamorphose, la paroi de l'intestin s'épaissit mais l'organe diminue de longueur. La paroi est mince et plate chez les larves d'Anoures, l'essentiel de la section de l'intestin étant occupé par la lumière centrale remplie d'aliments en transit. Chez l'individu nouvellement métamorphosé, la section intestinale est plus réduite. Cependant la paroi s'est fortement épaissie et sa surface villeuse envahit très largement la lumière. L'épaississement pariétal affecte non seulement l'intestin (Janes, 1934) mais également la région gastrique (Kuntz, 1922, 1924; Forte et coll., 1969).

Les coupes transversales semi-fines précédemment utilisées pour la numération cellulaire ont aussi permis d'étudier l'évolution de la surface des épithéliums primaire et secondaire et de la zone extraépithéliale (chorion, musculeuse et séreuse). Les contours de chaque zone de la paroi intestinale observée sur coupe transversale sont dessinés au microscope optique à projection (Visopan). L'aire représentée par l'ensemble des cellules appartenant à chacune des différentes zones a été mesurée à l'aide d'un planimètre (Maho). Les résultats sont exprimés en pourcentages moyens de la surface pariétale (Planche V, b; Dauça et Hourdry, 1978b [4]).

En prémétamorphose, l'épithélium primaire unistratifié des larves d'Alyte représente 70 % de la surface totale, et 65 % en prométamorphose. Durant ces périodes, la surface occupée par l'ensemble des épithéliocytes secondaires est négligeable et difficile à mesurer, car ces cellules sont

dispersées et peu discernables. Avant la métamorphose, la zone extraépithéliale est mince. Au climax, l'épithélium intestinal secondaire se développe soudainement (Planche V, b). Limité au départ à quelques îlots non jointifs et nettement individualisés sous l'épithélium primaire, il s'agence bientôt en une assise continue. Au cours du climax également, la zone extraépithéliale s'épaissit. Sa surface atteint 44 %, soit pratiquement la surface des deux épithéliums associés. Le développement de la musculeuse est responsable de cet épaississement, lequel résulte en partie de la prolifération des fibres musculaires. Des figures de mitose sont alors fréquentes dans les fibres des muscles circulaires (Janes, 1934). En fin de métamorphose, l'épithélium primaire a disparu. L'épithélium secondaire devient très villeux. Malgré l'augmentation de sa surface, il ne représente désormais que 48 % de la surface totale.

C. Dynamique des phénomènes histogénétiques.

Les larves d'Anoures sont soumises à une injection intrapéritonéale de thymidine tritiée, afin de marquer l'ADN néosynthétisé en phase S par les cellules intestinales qui vont se diviser. La durée d'incorporation est fixée à 90 minutes conformément aux travaux d'Atkinson et coll. (1972). Les doses de précurseur radioactif sont fonction du poids des animaux et correspondent sensiblement à celles choisies par Kaltenbach et Hobbs (1972). Les techniques radioautographiques et biochimiques sont utilisées de façon complémentaire (Hourdry et Dauça, 1977 [2]; Dauça et Hourdry, 1978b [4]).

1. Analyses radioautographiques.

La méthode radioautographique est fort précieuse, puisqu'elle permet non seulement de localiser le traceur radioactif dans les noyaux marqués, en microscopie photonique et électronique, mais également de déterminer les paramètres (indice de marquage, taux d'incorporation de chaque assise) caractérisant la prolifération des différentes catégories de cellules intestinales.

a - Indice de marquage.

L'indice de marquage des cellules en prolifération est défini en pourcentage par le rapport du nombre des noyaux marqués au nombre total de noyaux. Les variations de l'indice moyen dans l'intestin des larves d'Alyte, au cours du développement post-embryonnaire, sont figurées dans la Planche VI, a. Pour chacune des assises pariétales, l'indice de marquage présente des évolutions différentes.

PLANCHE VI

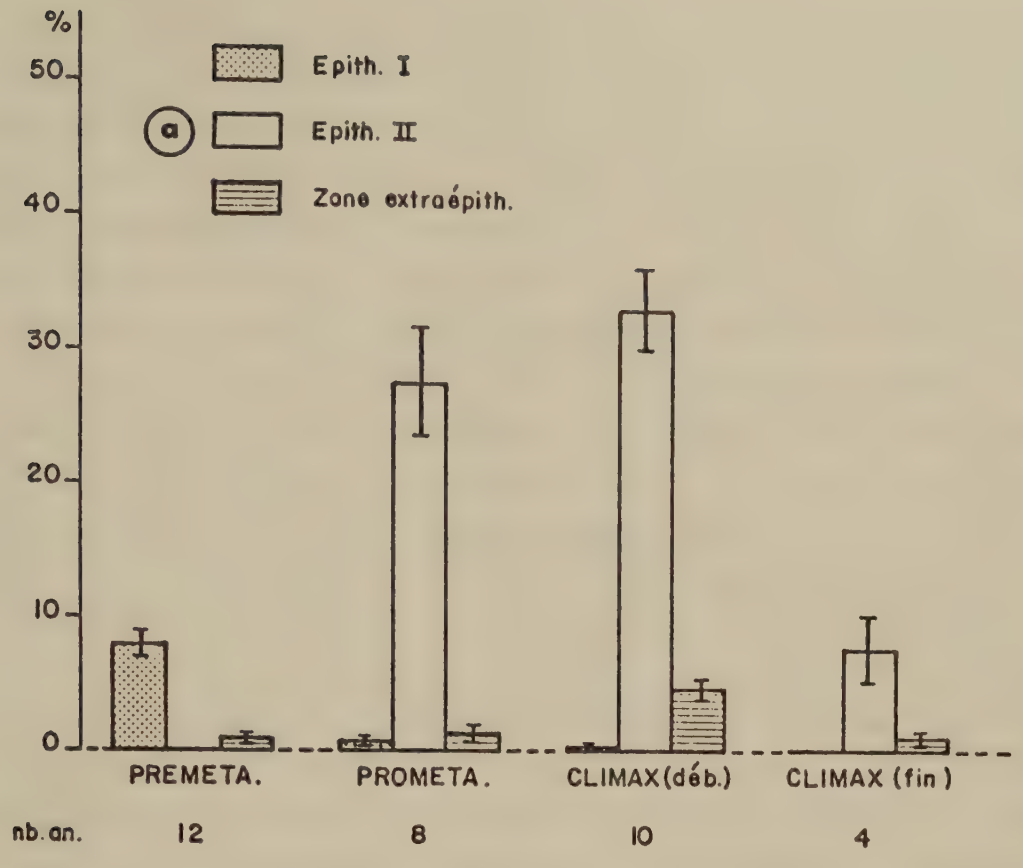
INCORPORATION DE THYMIDINE TRITIEE.

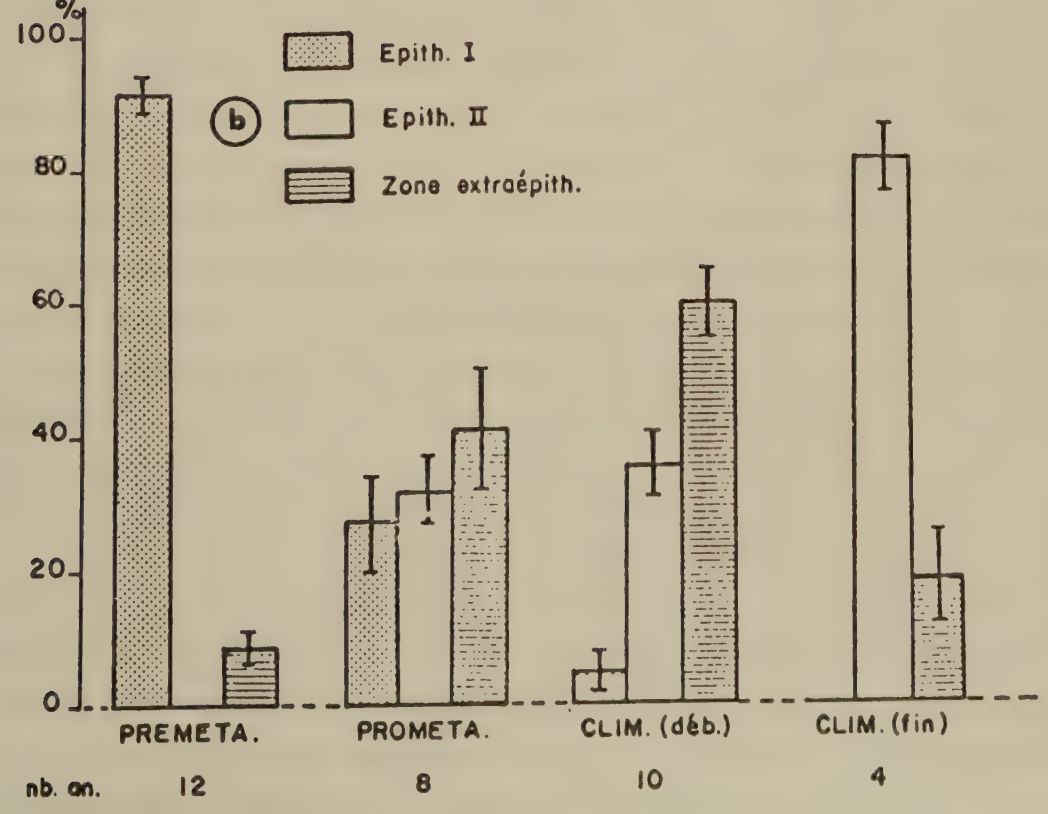
Les comptages ont été effectués à partir de radioautographies de l'intestin d'Alytes obstetricans.

fig. a. Indice de marquage correspondant à chaque zone de la paroi intestinale, avant et pendant la métamorphose de la larve d'Alyte (Les résultats sont exprimés en pourcentages moyens ± erreurs-standard).

fig. b. Répartition numérique des noyaux marqués entre les diverses zones de la paroi intestinale.

Abréviations :
Epith. I, épithélium primaire; Epith. II, épithélium secondaire; Zone extraépith, zone extraépithéliale; Préméta, prémétamorphose; Prométa, prométamorphose; Climax (déb.) début du climax; nb. an, nombre d'animaux.


%
50
40
30
20
10
0
a
Epith. I
Epith. II
Zone extraépith.
PREMETA.
PROMETA.
CLIMAX(déb.)
CLIMAX (fin)
nb. an.
12
8
10
4


%
100
80
60
40
20
0
b
Epith. I
Epith. II
Zone extraépith.
PREMETA.
PROMETA.
CLIM. (déb.)
CLIM. (fin)
nb. an.
12
8
10
4

* Grâce aux travaux de Marshall et Dixon (1978) nous savons que la croissance et le renouvellement de l'épithélium intestinal larvaire des Anoures sont assurés par l'activité mitotique des épithéliocytes différenciés. Chez les têtards de Xenopus laevis, 75 % des mitoses se produisent dans les épithéliocytes absorbants ou dans les cellules muqueuses. La localisation nucléaire de l'incorporation de thymidine tritiée par l'épithélium intestinal des larves d'Alytes obstetricans confirme ce résultat sur radioautogrammes (Dauça et Hourdry, 1978b [4]). L'indice de marquage du tissu diminue de façon constante au cours du développement post-embryonnaire. En prémétamorphose, l'indice de marquage est de 8 % dans l'épithélium intestinal primaire des larves d'Alytes obstetricans (Dauça et Hourdry, 1978b [4]) et de 12,6 % dans celui des têtards de Bufo bufo (Dournon et Chibon, 1974), mais il chute à près de 1 % en prométamorphose, et devient nul au climax. La perte par les épithéliocytes intestinaux primaires de leur capacité à se diviser est brutale et synchrone. Ainsi, la croissance du tissu se ralentit puis cesse en réponse à l'allongement du temps de génération des cellules (plus précisément de la phase G_1) et, d'autre part, à la diminution du nombre des épithéliocytes primaires encore capables de se multiplier.

* A partir du stade XVI, le précurseur radioactif est préférentiellement localisé dans les noyaux des cellules embryonnaires basales. Leur prolifération s'effectue de façon asynchrone, car certaines cellules ont leur noyau marqué mais d'autres sont en mitose. Les mitoses ne sont pas marquées par le traceur radioactif, la durée d'incorporation (90 minutes) étant trop courte par rapport à la durée de la phase G_2 (2 heures 1/2) calculée par Dournon et Chibon (1974). Ainsi le marquage obtenu correspond par conséquent à une seule génération de cellules en phase S. Au climax, l'indice de marquage de l'épithélium secondaire est élevé. Chez les larves d'Alytes obstetricans, 33 % des épithéliocytes intestinaux secondaires sont alors marqués (Dauça et Hourdry, 1978b [4]) contre 43 % chez le têtard de Bufo bufo (Dournon et Chibon, 1974). Selon ces auteurs, le faible temps de génération des cellules s'explique par l'absence de phase G_1. Le paroxysme de la métamorphose se traduit donc par une stimulation importante de la prolifération des cellules souches intestinales. La stimulation est néanmoins de courte durée car, dès le stade XXV, l'indice de marquage de l'épithélium tombe à 8 % chez Alytes obstetricans et à 17,9 % chez Bufo bufo. Il n'est cependant pas négligeable ce qui explique le développement rapide des villosités envahissant la lumière intestinale.

Les phénomènes histogénétiques ne sont pas absents de la zone extra-épithéliale. De 0,9 % chez les larves d'Alyte en pré- et prométamorphose, l'indice de marquage a quintuplé au climax. La prolifération cellulaire est donc en partie responsable de l'épaississement présenté au cours de cette période par la musculeuse.

b - Estimation de la part prise par chaque assise pariétale dans l'incorporation de thymidine tritiée.

Dans chaque zone de la paroi intestinale, le nombre des noyaux marqués évolue au cours des évènements de la métamorphose. De ce point de vue, l'indice de marquage ne renseigne pas sur la part prise par chaque assise de la paroi dans l'incorporation de la thymidine tritiée. Cette importance est reflétée sur coupe transversale par la répartition numérique des noyaux marqués dans les diverses zones. La répartition est appréciée en rapportant le nombre des noyaux marqués dénombrés dans une zone au nombre total des noyaux marqués calculés pour la section. Les coupes semi-fines ayant servi à la détermination de l'indice de marquage sont réutilisées (Dauça et Hourdry, 1978b [4]). Les valeurs, exprimées en pourcentages moyens pour chaque période, sont figurées dans la Planche VI, b.

En prémétamorphose, l'essentiel de la radioactivité incorporée par l'intestin est localisé dans l'épithélium primaire. Sur dix noyaux marqués par la thymidine tritiée, neuf appartiennent à ce tissu et un seul à la zone extraépithéliale.

Lors des stades XVI-XVIII, la situation change. Le pourcentage de l'incorporation nucléaire passe de 90 % à 27,4 % dans l'épithélium primaire. L'épithélium secondaire et la zone extraépithéliale incorporent respectivement 31,6 % et 41 % du traceur radioactif.

Au début du climax (stades XIX-XXI), l'épithélium primaire n'incorpore presque plus le précurseur. L'incorporation se répartit entre l'épithélium secondaire en formation (35,3 %) et la zone extraépithéliale (59,6 %). Au cours de cette période, l'indice de marquage de l'épithélium secondaire dépasse significativement l'indice calculé pour la zone extraépithéliale, mais il concerne une population cellulaire limitée de sorte que l'incorporation de thymidine tritiée n'est pas prépondérante dans ce nouvel épithélium.

A partir du stade XXII, le plus grand nombre de noyaux marqués est observé dans l'épithélium secondaire (81,3 %) et non plus dans la zone extra-épithéliale (18,7 %). L'importance numérique des épithéliocytes secondaires

qui forment une assise continue et, d'autre part un indice de marquage très nettement supérieur à celui de la zone extraépithéliale concourent à ce renversement de situation.

2. Etudes biochimiques.

a - Variations de l'activité spécifique de l'ADN intestinal.

Par des techniques biochimiques appropriées (Dauça et Hourdry, 1978b [4]), nous avons cherché à savoir si les remaniements intestinaux s'accompagnent ou non de variations significatives de l'activité spécifique de l'ADN intestinal. Les fluctuations de ce paramètre reflètent les variations présentées par la vitesse de synthèse de l'ADN.

L'activité spécifique de l'ADN intestinal est élevée en prémétamorphose. Définie par Etkin (1964, 1968) comme une phase de croissance de la larve, cette période est notamment caractérisée par le fort développement de l'intestin (Lestage, 1979) dont le poids, la longueur, le volume et le nombre de spires augmentent. La forte activité spécifique de l'ADN atteste qu'en prémétamorphose les cellules intestinales constituent une population en expansion.

L'activité spécifique chute de façon nette et brutale en prométamorphose. Cette diminution concorde avec la baisse de l'indice de marquage de l'épithélium intestinal primaire, où les lysosomes augmentent en nombre et en taille, et elle est la conséquence de l'arrêt de croissance,et,de la dégénérescence qui gagne ce tissu.

Dès que les évènements de la métamorphose atteignent leur paroxysme, l'activité spécifique de l'ADN intestinal s'élève à nouveau, sans cependant atteindre la valeur calculée en prémétamorphose. Cette élévation est l'expression des phénomènes histogénétiques qui surviennent au climax dans l'épithélium secondaire et dans la zone extraépithéliale.

Au niveau de l'intestin, un lien étroit existe entre les fluctuations de la synthèse de l'ADN et les changements survenant dans la dynamique des diverses populations cellulaires. Pour l'essentiel, les variations constatées dans l'activité spécifique de l'ADN coïncident avec l'évolution de l'épithélium intestinal au cours de la métamorphose spontanée. Ces résultats peuvent être comparés à ceux obtenus par Smith-Gill et coll. (1979) au niveau du foie de têtards de Rana pipiens. Selon ces auteurs, les hépatocytes subissent un renouvellement partiel durant le développement post-embryonnaire naturel des larves d'Anoures. En pré- et prométamorphose, les cellules

hépatiques forment une population dont l'expansion est suggérée par l'augmentation de la quantité et du taux de synthèse de l'ADN. Au climax, le contenu et l'activité spécifique de l'ADN hépatique diminuent en réponse à la disparition d'une partie des hépatocytes. Par la suite, une nouvelle population cellulaire se développe et entre en différenciation. Comme pour l'intestin, la métamorphose du foie des Anoures s'accompagne de processus de dégénérescence et de prolifération cellulaires. Cependant le remplacement des hépatocytes diffère de la substitution de l'épithélium intestinal par deux caractères. Il est partiel et n'intéresse qu'une faible partie des hépatocytes, alors qu'il est total pour les épithéliocytes intestinaux, d'autre part les phénomènes de dégénérescence apparaissent plus tardivement dans le foie.

b - Evolution du rapport protéines/ADN.

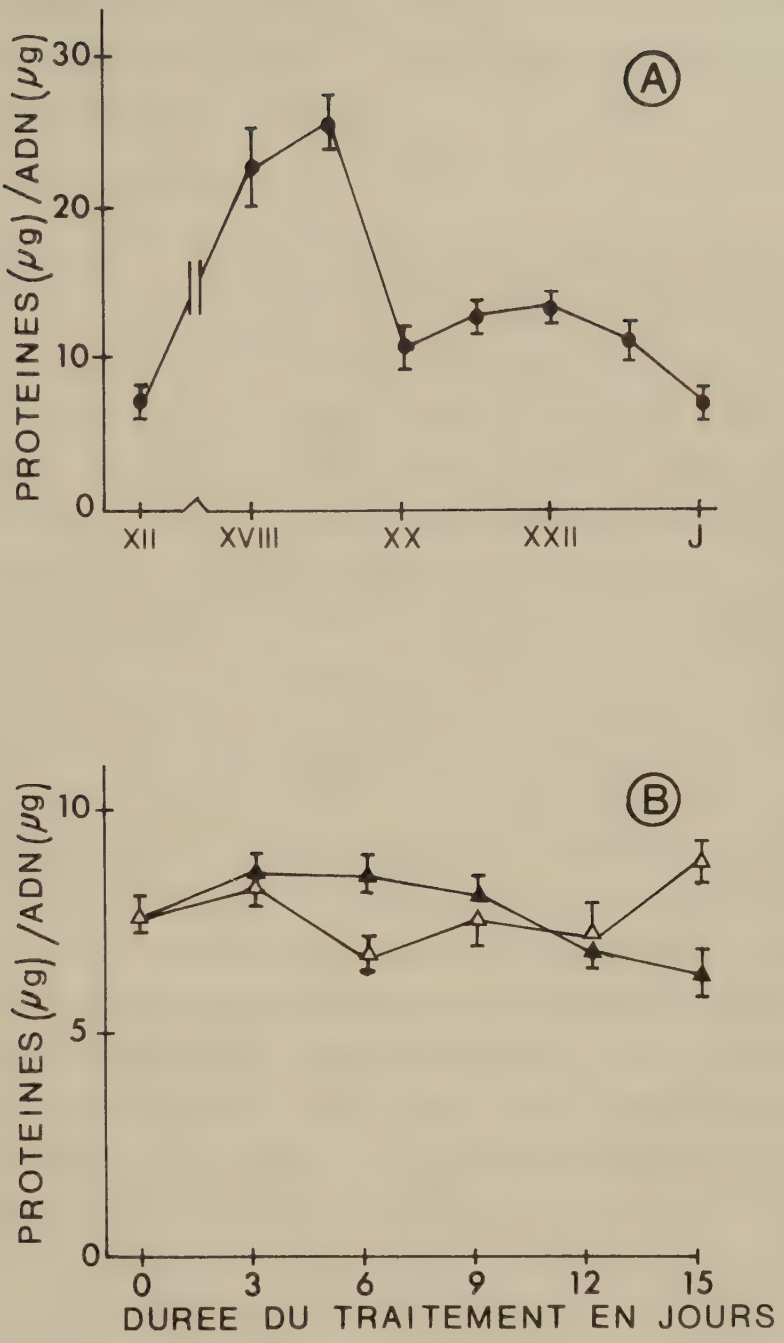
Si l'activité spécifique de l'ADN est un paramètre précieux dans l'étude de la dynamique d'une population cellulaire, les variations du rapport protéines/ADN peuvent fournir des renseignements sur le degré de différenciation. Lors de la métamorphose naturelle des têtards du Crapaud-accoucheur (Dauça et Hourdry, 1981a [1]) le rapport protéines/ADN de l'intestin augmente fortement durant les stades XVIII-XIX, chute au stade XX puis s'accroît légèrement au stade XXII (Planche VII, a). La valeur maximale atteinte par ce rapport au stade XIX coïncide avec l'involution de l'épithélium larvaire qui amorcée au stade XVIII, est achevée au stade XXII. Elle pourrait refléter d'une part une forte augmentation de la quantité totale des hydrolases lysosomales révélée cytochimiquement (Hourdry, 1971b, c) et, d'autre part, l'arrêt de la synthèse de l'ADN. La chute de ce rapport au stade XX est liée à l'élévation du taux d'ADN, consécutive à la prolifération des cellules souches de l'épithélium secondaire dont le rapport nucléoplasmique demeure élevé. A partir du stade XXII, les divisions cellulaires deviennent moins fréquentes, les épithéliocytes secondaires engendrés commencent à se différencier et synthétisent activement des protéines de structure ainsi que des enzymes. Ces changements pourraient expliquer la légère augmentation du rapport protéines/ADN constatée au stade XXII. Dans le chapitre II, nous aurons l'occasion d'interpréter avec plus de précisions cette augmentation, signe d'un début de différenciation des épithéliocytes secondaires.

PLANCHE VII

EVOLUTIONS DU RAPPORT PROTEINES/ADN.

fig. a. Etude lors de la métamorphose spontanée des larves d'Alyte. (J : stade juvénile).

fig. b. Analyse au cours de la métamorphose induite par la thyroxine exogène. (△), témoin; (▲), larve traitée.
Les résultats sont exprimés en pourcentages moyens ± erreurs-standard.


A
PROTEINES (µg) /ADN (µg)
30
20
10
0
XII
XVIII
XX
XXII
J
B
PROTEINES (µg) /ADN (µg)
10
5
0
0
3
6
9
12
15
DUREE DU TRAITEMENT EN JOURS

DISCUSSION

Les phénomènes histogénétiques se manifestent à plusieurs reprises et selon des modalités variées au cours du développement post-embryonnaire de l'intestin des larves d'Anoures.

PREMETAMORPHOSE.

Une première phase de multiplication cellulaire se produit en prémétamorphose. Elle est responsable de la croissance de l'intestin larvaire. L'indice de marquage des épithéliocytes primaires présente une valeur moyenne de 12,6 % chez Bufo bufo (Dournon et Chibon, 1974), de 10,3 % chez Xenopus laevis (Marshall et Dixon, 1978) et de 8 % chez Alytes obstetricans (Dauça et Hourdry, 1978b [4]). Cette multiplication n'est pas restreinte à une région précise de l'épithélium. De ce point de vue, l'épithélium intestinal des larves d'Anoures diffère sensiblement dans son organisation et son comportement de celui des autres Chordés. Chez les Urochordés (Ermak, 1975, 1981), les Cyclostomes (Hansen et Youson, 1978), la plupart des Poissons (Vickers, 1962), les Anoures adultes (McAvoy et Dixon, 1977), les Reptiles (Wurth et Musacchia, 1964) et les Oiseaux (Overton et Shoup, 1964) les sites prolifératifs sont strictement limités aux espaces situés à la base des villosités, tandis qu'ils s'organisent en îlots sous l'épithélium intestinal des Urodèles adultes (Patten, 1960; Andrew, 1963; Martin, 1971) ou forment des cryptes dans l'intestin grêle des Mammifères (Leblond et Stevens, 1948; Bertalanffy, 1960; Fry et coll., 1963). Dans l'intestin des Anoures adultes (McAvoy et Dixon, 1977) et des Mammifères (Cheng, 1974a, b; Cheng et Leblond, 1974) seules les cellules indifférenciées peuvent se multiplier. Au contraire, tous les épithéliocytes intestinaux des larves d'Anoures sont capables de se diviser (Cohen et Berrill, 1936; Brown et Millington, 1968) même quand leur différenciation structurale et leur spécialisation fonctionnelle sont acquises (Marshall et Dixon, 1978). Une telle possibilité caractérise aussi les entérocytes des rats foetaux (Hermos et coll., 1971; Eastwood et Trier, 1974). Cette faculté disparaît chez les Mammifères à la naissance et chez les Anoures au climax de la métamorphose.

PROMETAMORPHOSE.

Le temps de génération des épithéliocytes intestinaux primaires s'allonge durant la prométamorphose, et le nombre des cellules en division diminue (Chibon et Dournon, 1972; Dournon et Chibon, 1974). De même, après traitement par la thymidine tritiée, l'indice de marquage des noyaux primaires et l'activité spécifique de l'ADN intestinal néosynthétisé chutent (Dauça et Hourdry, 1978b [4]). Il en résulte le ralentissement puis l'arrêt de la croissance de l'épithélium primaire. Cette situation n'est pas spécifique de cet épithélium. Au cours de la même période, les cellules épidermiques des membres postérieurs de Rana pipiens présentent un indice de marquage minimal, juste avant l'apparition des premières glandes cutanées (Wright, 1973). Selon l'auteur, les cellules germinatives acquièrent leur aptitude à se multiplier puis à se différencier en cellules glandulaires au cours de ce repos mitotique. Une telle hypothèse peut être reprise pour l'intestin de têtard en prométamorphose dont l'épithélium primaire cesse de s'accroître et commence à dégénérer, tandis que les cellules souches du futur épithélium secondaire deviennent progressivement aptes à proliférer.

CLIMAX.

Au climax de la métamorphose survient une brutale poussée proliférative qui conduit au développement rapide de l'épithélium intestinal secondaire à partir des cellules souches basales. Restées quiescentes pendant toute la période larvaire, les cellules souches se multiplient désormais activement. Leur temps de génération est sensiblement plus court que celui constaté pour les épithéliocytes primaires. Au paroxysme de la crise morphogénétique, l'indice de marquage de l'épithélium secondaire en formation est élevé. Il se situe entre 30 et 50 % selon les espèces considérées (Dournon et Chibon, 1974; Dauça et Hourdry, 1978b [4]). Corrélativement, le taux d'ADN intestinal néosynthétisé augmente (Dauça et Hourdry, 1978b [4]). L'onde proliférative est de courte durée et ne se manifeste pas de façon synchrone le long de l'intestin. Selon Delsol et Zervudacki (1963), Labarère (1967), Dournon et Chibon (1974), elle prendrait naissance dans la région moyenne de l'organe, au niveau du point de rebroussement, et se propagerait de part et d'autre, dans les spires ascendantes et descendantes. La "poussée mitotique" affecte à un moindre degré les cellules de la zone extra-épithéliale (chorion, musculeuse et séreuse). Chez Alytes obstetricans,

l'indice de marquage de cette région est faible quand on le compare à celui de l'épithélium secondaire. Il est cependant cinq fois plus élevé qu'en prémétamorphose. Si l'accumulation des fibres musculaires provoquée par le raccourcissement du tube digestif joue un rôle important dans l'épaississement de la zone extraépithéliale (Kuntz, 1924), l'hyperplasie cellulaire y contribue tout aussi largement (Janes, 1934; Hourdry et Dauça, 1977 [2]). Pour les mêmes raisons, le chorion et la séreuse de l'estomac présentent une épaisseur accrue (Kuntz, 1922; Forte et coll., 1969). Au paroxysme de la métamorphose des Anoures, les phénomènes histogénétiques se manifestent aussi hors du tractus digestif. Toute prolifération cellulaire est absente des organes larvaires qui dégénèrent (queue,...), mais elle est présente dans les tissus qui se développent ou sont remodelés (pancréas, foie, rétine...). Nombreux sont les organes ou les tissus qui sont marqués au climax par une crise mitotique : assise germinative épidermique (Vanable, 1964; Shih, 1970; Wright, 1973; Shih et Vanable, 1975), structures constitutives de l'oeil et formations oculaires annexes (Beach et Jacobson, 1979a; Kaltenbach et coll., 1980), éléments du système nerveux (Etkin, 1963; Terlou et Ploemacher, 1973; Gona, 1976; Kikuyama et coll., 1979) et du foie (Elias et Sherrick, 1969; Atkinson et coll., 1972; Smith-Gill et coll., 1979), globules rouges (Moss et Ingram, 1968; De Witt, 1968; Benbassat, 1970; Theil, 1970; Just et Atkinson, 1972; Ducibella, 1974; Broyles et coll., 1981). Rares sont cependant les tissus qui, comme l'épithélium intestinal, subissent un remplacement intégral lors de la métamorphose et dont une activité mitotique intense assure le complet remplacement. De ce point de vue, la substitution de l'épithélium intestinal rappelle celle des globules rouges (Foxon, 1964; Frieden, 1968; Frieden et Just, 1970; Broyles, 1981). Au cours de la métamorphose, de nouvelles populations cellulaires (les épithéliocytes intestinaux secondaires, les globules rouges et à un moindre degré les hépatocytes) se mettent en place par prolifération de cellules souches et manifestent très rapidement des caractères "adultes". Par les espèces moléculaires qu'elles contiennent (hydrolases digestives, hémoglobine, enzymes du cycle de l'urée, etc...), ces nouvelles populations diffèrent souvent nettement des populations larvaires qu'elles ont remplacées. Ces substitutions posent le problème de savoir si les cellules souches appartiennent à une seule lignée ou à deux lignées différentes. Dans l'hypothèse d'une seule lignée, les cellules souches produiraient des cellules de type larvaire dans un premier temps, et des cellules de type adulte lors de la métamorphose, par répression de certains gènes. Dans l'hypothèse de

deux lignées, les cellules souches appartiendraient à deux types, les premières fournissant uniquement des cellules "larvaires", les secondes des cellules "adultes". Au niveau de l'épithélium intestinal, l'existence de deux lignées est probable dans la mesure où les cellules souches ne participeraient pas en prémétamorphose au développement de l'épithélium primaire (Marshall et Dixon, 1978).

POST-CLIMAX.

Absentes de l'intestin des larves aquatiques herbivores et engendrées par le développement de l'épithélium secondaire, des villosités transversales marquent désormais la surface intestinale interne du juvénile terrestre et carnivore; elles persisteront chez l'adulte. En post-climax, l'augmentation du nombre et de la taille des villosités s'accompagne d'une localisation plus stricte des sites prolifératifs à la base des villosités. Les figures mitotiques se localisent dans cette seule région. L'incorporation de thymidine tritiée y est remarquée, mais elle diminue vers le sommet de la villosité (McAvoy et Dixon, 1977; Dauça et Hourdry, 1978b [4]). Ce gradient décroissant constaté pour la prolifération cellulaire varie en raison inverse du degré de maturation et de spécialisation des épithéliocytes intestinaux (Chin et Wong, 1977; McAvoy et Dixon, 1978a, b). Depuis les travaux de Leblond et Messier (1958) et de Quastler et Sherman (1959), repris et largement documentés dans les revues de Lipkin (1973) et de Cheng et Leblond (1974), il est classiquement admis que l'épithélium intestinal des Mammifères est soumis à un constant renouvellement, qu'assurent la prolifération des cellules cryptales, leur migration et leur différenciation le long des villosités et, enfin, leur élimination par extrusion dans la lumière intestinale. Un tel processus de renouvellement est, semble-t-il, généralisable aux Vertébrés inférieurs et même aux Urochordés, comme en témoignent les rares travaux entrepris dans ces groupes. Les cellules digestives issues des sites prolifératifs atteignent la crête des villosités après 16 jours chez les Urochordés (Ermak, 1976, 1981), 14 jours chez les Cyclostomes (Hansen et Youson, 1978; Youson et Langille, 1981), 6 à 15 jours chez les Poissons (Vickers, 1962; Gas et Noaillac-Depeyre, 1974; Stroband et Debets, 1978), 15 jours chez les Urodèles (Martin, 1971), 16 jours chez les Anoures (McAvoy et Dixon, 1977) et moins de 7 jours chez les Mammifères (Koldovsky et coll., 1966; Lipkin, 1973). Chez les Urochordés comme chez les Vertébrés inférieurs, la durée de vie des épithéliocytes intestinaux est sensiblement plus longue que celle des entérocytes des Mammifères.

Chez les Urochordés (Ermak, 1976), les Cyclostomes (Hansen et Youson, 1978), les Poissons (Ignat'eva et Kostomarova, 1966; Hyodo-Taguchi, 1970; Garcia et Johnson, 1972; Gas et Noaillac-Depeyre, 1974) et les Amphibiens (Reddan et Rothstein, 1966; Chibon, 1968; Chibon et Brugal, 1969; Brugal, 1971; Dournon et Chibon, 1974), la durée du cycle cellulaire diminue quand la température d'élevage est augmentée. Réciproquement, les phases du cycle des cellules de Mammifères cultivées in vitro ont des durées allongées par un abaissement de la température (Sisken et coll., 1965; Rao et Engelberg, 1966; Vendrely et coll., 1968).

Les changements éco-physiologiques présentés par les Anoures au cours de leur développement naturel s'accompagnent de transformations spectaculaires de la morphologie et de l'histologie intestinales. De long et spiralé chez la larve aquatique et microphage, l'intestin devient court et subrectiligne chez l'individu juvénile, terrestre et carnivore, tandis qu'une assise épithéliale villeuse se substitue à un épithélium plat et lisse. Le remodelage de l'intestin des Anoures est un prélude au changement de régime alimentaire. Des transformations plus discrètes se produisent au cours de la métamorphose intestinale des Urodèles. Leur réalisation dure plusieurs mois, s'effectue par zones et ne présente jamais l'allure spectaculaire de la métamorphose de l'intestin des Anoures (Delsol et Flatin, 1972). La remarquable plasticité et la capacité d'adaptation de l'intestin se retrouvent ailleurs que chez les Amphibiens. La métamorphose des Insectes entraîne la dégénérescence de l'épithélium intestinal de la larve de dernière génération (Misch, 1965; Andries, 1975) et le développement de l'épithélium intestinal de l'Imago (Andries, 1970, 1972, 1979), à partir de cellules embryonnaires (Perez, 1910; De Priester, 1972; Saleh et Schoeller-Raccaud, 1980). Chez les Urochordés et plus précisément chez les Ascidiacés, la fin de la métamorphose est marquée par l'apparition de villosités au niveau du tractus digestif (Scott, 1952; Trason, 1957; Cloney, 1961). De même, la transformation de l'ammocète microphage et dulçaquicole en une lamproie ectoparasite et marine se traduit, au niveau de l'intestin, par le remplacement progressif des épithéliocytes (Youson, 1980; Youson et Horbert, 1982) et par la mise en place de villosités transversales (Youson et Connelly, 1978).

II - PHENOMENES HISTOGENETIQUES, APRES TRAITEMENT PAR LA THYROXINE.

Depuis les travaux de Gudernatsch (1912) et d'Allen (1916), il est classiquement reconnu que la métamorphose des larves d'Anoures est due à une élévation de l'activité thyroïdienne. Chez les Amphibiens, comme chez la plupart des Vertébrés, la thyroïde sécrète de la triiodothyronine (T_3) et de la tétraiodothyronine ou thyroxine (T_4) (Berg et coll., 1959). La concentration de ces hormones augmente dans le milieu intérieur au début du climax, comme l'attestent les premiers essais de dosage indirect, consistant à immerger de jeunes têtards thyroïdectomisés dans une solution de plus en plus concentrée en thyroxine afin de reproduire un profil normal de métamorphose (Etkin, 1935; 1964, 1968), à réaliser une séparation chromatographique suivie d'une analyse densiométrique de la T_4 (Race et Cameron, 1966) ou à quantifier les protéines plasmatiques iodées (Just, 1972). La mise au point des techniques de dosage radioimmunologique a permis de déterminer de façon plus directe et plus précise la concentration des hormones thyroïdiennes dans le sang des larves d'Anoures en métamorphose spontanée (Clemons, 1976; Leloup et Buscaglia, 1977; Miyauchi et coll., 1977; Kaltenbach et Lee, 1977; Krug et coll., 1978; Regard et coll., 1978; Suzuki et Suzuki, 1978, 1981; Mondou et Kaltenbach, 1979). Selon Kaye (1961), l'activité thyroïdienne des larves d'Anoures débute dès les premiers stades de la vie post-embryonnaire (stades I-II). Cependant les concentrations plasmatiques des hormones thyroïdiennes ne deviennent dosables par les techniques radioimmunologiques qu'en fin de prométamorphose. Ces concentrations passent par un maximum au climax.

Les résultats d'Hourdry (1972a) ont montré que le traitement des larves d'Anoures par une solution aqueuse de thyroxine à la concentration de 10^{-7} g/ml, induit la dégénérescence de l'épithélium intestinal primaire et son complet remplacement par une assise de néoformation. Dans ces conditions, il nous a paru intéressant d'analyser plus particulièrement l'action de l'hormone sur la prolifération des cellules-cibles et la mise en place des épithéliocytes intestinaux secondaires. Dans ce but, lors du traitement des têtards d'Anoures par la thyroxine, les modifications morphologiques, morphométriques et histologiques subies par l'intestin ont été recherchées. L'évolution de la fréquence des épithéliocytes secondaires et de la surface qu'ils représentent, a été suivie. Leur indice de marquage par la thymidine tritiée, a été déterminée ainsi que l'activité spécifique de l'ADN intestinal.

Des larves d'Alytes obstetricans ou de Discoglossus pictus choisies en prémétamorphose (stades I-XI) sont placées dans une solution aqueuse de thyroxine à la concentration finale de 10^{-7} g/ml préconisée par Etkin (1968). Des concentrations plus faibles de la thyroxine exogène ont également été choisies (5.10^{-8} g/ml). De telles concentrations, dix fois plus élevées que celles déterminées par radioimmunodosages dans le plasma des larves au climax de la métamorphose spontanée, sont nécessaires pour induire une métamorphose intestinale complète, chez l'ensemble des animaux traités, avec un minimum de mortalité. Malgré une absorption hormonale faible et l'existence de variations individuelles (Yamamoto et coll., 1966; Frieden, 1968), le séjour dans une solution thyroxinée permet de maintenir de façon prolongée le taux hormonal du milieu interne à un niveau constant, à la différence de l'injection hormonale qui n'entraîne qu'une élévation fugace du taux interne (Etkin, 1968). Les témoins sont conservés dans de l'eau ordinaire maintenue à la même température que les bains thyroxinés (20°C ± 1°C).

A. Le tractus digestif, organe-cible de la thyroxine.

1. Séquence des transformations morphologiques.

Les premiers effets de la thyroxine sur les larves d'Alyte ne deviennent évidents qu'après 3 jours au moins de traitement hormonal. Le têtard cesse alors de s'alimenter. Il perd peu à peu son aspect ventru. Ses membres postérieurs s'allongent. Des doigts complètement formés sont reconnaissables. Le tractus digestif conserve cependant une disposition spiralée. Les régions gastrique et intestinale ne sont pas nettement individualisées.

Les transformations morphologiques majeures apparaissent après une semaine de traitement hormonal. Les membres antérieurs font désormais saillie. L'abdomen se réduit tandis que l'intestin se déspiralise et se raccourcit. Sa lumière est alors envahie de débris jaunâtres.

A partir du 9ème jour de traitement, la dysharmonie engendrée par la thyroxine dans le développement des larves d'Alyte est largement accusée. L'hormone déclenche l'apparition d'un goître qui déforme et alourdit le plancher de la cavité buccale. La queue amorce sa régression alors que les membres antérieurs émergent. L'irruption du membre antérieur gauche constitue un évènement souvent critique, et parfois même fatal pour l'animal. Le tractus digestif a basculé sur le côté gauche, en déplaçant le pancréas. La poche stomacale devient reconnaissable et s'individualise de l'intestin sub-rectiligne.

Si le traitement est prolongé au-delà de 14 jours, les larves d'Alyte se transforment en de jeunes crapauds qui gagnent le milieu terrestre. Leur queue a presque complètement régressé. L'intestin a acquis son aspect définitif comme le révèlent les nombreuses villosités qui tapissent sa surface interne.

2. Données morphométriques.

Le traitement des larves du Crapaud-accoucheur par la thyroxine exogène réduit les paramètres : poids de l'animal, poids de l'intestin, longueur de l'intestin, ainsi que les rapports : poids de l'intestin/ poids de l'animal et longueur de l'intestin/longueur du corps. Ces diminutions sont manifestes 3 jours après le début du traitement (Planche VIII). La régression caudale ne devient effective qu'après une exposition à l'hormone de 6 à 9 jours.

Les mesures du poids et de la longueur de l'intestin effectuées toutes les 12 heures montrent que les valeurs obtenues chez les larves traitées demeurent proches des valeurs témoins, durant les premières 48 heures (Planche VIII). Ceci accrédite l'idée que la T_4 agit sur l'intestin après une certaine latence, comme le fait la T_3 (Carver et Frieden, 1977).

B. Remaniements histologiques induits.

1. Dualité de la réponse épithéliale.

a - Dégénérescence de l'épithélium intestinal larvaire.

L'action de la thyroxine exogène sur l'épithélium intestinal des larves d'Anoures a été particulièrement étudiée chez Discoglossus pictus (Hourdry, 1970, 1971d, 1972a; Hourdry et Dauça, 1977 [2]). Elle se traduit dans un premier temps par la nécrose des épithéliocytes larvaires. Les processus dégénératifs commencent après une latence dont la durée est fonction du stade de développement des individus au moment du traitement hormonal. Chez des larves de Discoglosse choisies aux stades VIII-XII, la dégénérescence de l'épithélium primaire débute après une quinzaine d'heures d'immersion dans la solution hormonale. Elle apparaît plus tardivement chez Alytes obstetricans puisque le traitement d'une journée par la T_4 de larves prises également aux stades VIII-XII, ne modifie pas sensiblement la structure de l'intestin (Dauça et Hourdry, 1977 [6]). L'épithélium primaire nécrosé est complètement éliminé après 6 jours d'exposition à l'hormone des larves de Discoglosse, contre 11 jours pour les têtards d'Alyte. Pour l'une

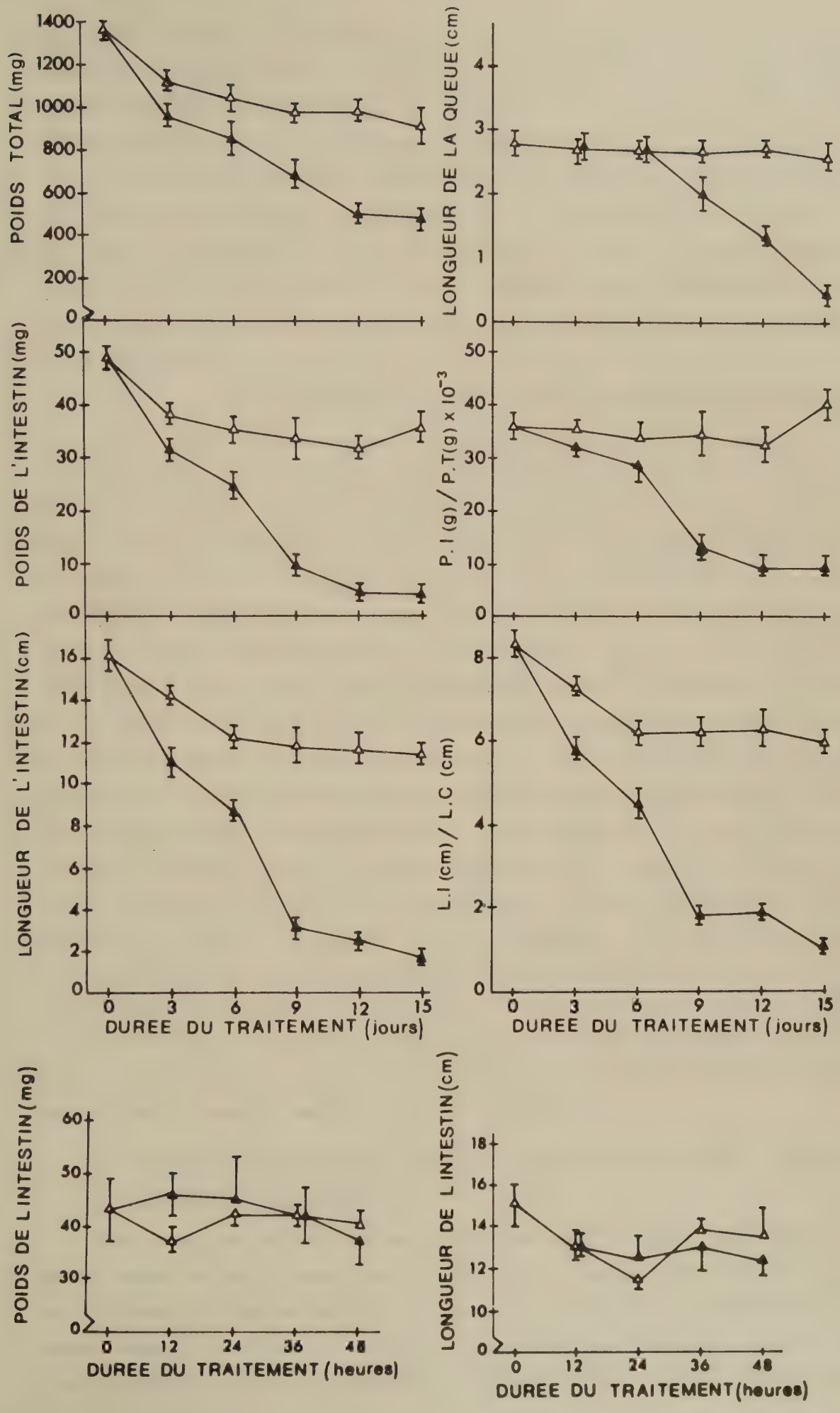
PLANCHE VIII

ANALYSE MORPHOMETRIQUE DES TRANSFORMATIONS INDUITES PAR LA THYROXINE EXOGENE.

Les larves d'Alytes obstetricans, prises aux stades X-XII, ont été placées dans une solution aqueuse thyroxinée (10^{-7}g/ml). Pour chaque durée du traitement, les variations morphométriques ont été déterminées et exprimées par leurs moyennes $\pm$ erreurs-standard.

Abréviations :

L.C, longueur du corps; L.I, longueur de l'intestin; P.I, poids de l'intestin; P.T, poids total; (Δ), témoin; (▲), larve traitée.


POIDS TOTAL (mg)
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
LONGUEUR DE LA QUEUE (cm)
4
3
2
1
0
POIDS DE L'INTESTIN (mg)
50
40
30
20
10
0
P.I (g) / P.T(g) x 10⁻³
50
40
30
20
10
0
LONGUEUR DE L'INTESTIN (cm)
16
14
12
10
8
6
4
2
0
L.I (cm) / L.C (cm)
8
6
4
2
0
0 3 6 9 12 15
DUREE DU TRAITEMENT (jours)
0 3 6 9 12 15
DUREE DU TRAITEMENT (jours)
POIDS DE L'INTESTIN (mg)
60
50
40
30
0
0 12 24 36 48
DUREE DU TRAITEMENT (heures)
LONGUEUR DE L'INTESTIN (cm)
18
16
14
12
10
0
0 12 24 36 48
DUREE DU TRAITEMENT (heures)

et l'autre espèce, l'altération épithéliale induite se manifeste primitivement par l'accumulation de lysosomes dans la région supranucléaire et par la désorganisation progressive de la "bordure en brosse" apicale. L'activité phosphatasique acide des lysosomes augmente et culmine dans l'intestin des larves de Discoglosse entre 3 et 6 jours de traitement (Hourdry, 1972b). La diffusion des enzymes lysosomales dans le hyaloplasme y crée des foyers de nécrose. Le matériel cellulaire dégradé est d'abord ségrégé dans des vacuoles autolytiques ou dans des corps résiduels, puis éliminé dans la lumière intestinale après rupture de la cytomembrane apicale des épithéliocytes primaires.

b - Activation du développement de l'épithélium secondaire.

Si la thyroxine provoque la dégénérescence des épithéliocytes primaires, elle induit par contre la multiplication des cellules embryonnaires basales. La prolifération des cellules souches du futur épithélium intestinal secondaire débute après une latence plus ou moins grande selon le stade de développement des larves soumises au traitement hormonal. Pour des larves prises aux stades VIII-XII, cette latence est de 3 jours chez Discoglossus pictus (Hourdry, 1971d; Dauça et coll., 1976 [5]; Dauça, 1977) et de 7 jours chez Alytes obstetricans (Dauça et Hourdry, 1977 [6]). Les cellules basales se divisent alors activement et engendrent de petits îlots. Les figures de mitose sont fréquentes. L'accroissement de la population des épithéliocytes secondaires compense la raréfaction des épithéliocytes primaires (Planche IX, a). Pendant toute la durée de cette "poussée mitotique", les cellules insulaires conservent leurs caractères embryonnaires : rapport nucléoplasmique élevé, présence d'un ou de deux nucléoles volumineux, organites cytoplasmiques peu ou pas différenciés. Après une semaine d'immersion dans la solution thyroxinée, les épithéliocytes secondaires de l'intestin des larves de Discoglosse composent la totalité de la population cellulaire épithéliale. Le même résultat est obtenu pour les têtards du Crapaud-accoucheur après un traitement hormonal de 14 jours. Les épithéliocytes absorbants présentent à nouveau une "bordure en brosse".

2. Comparaison des effets de la thyroxine sur les divers tissus de la paroi intestinale.

La thyroxine agit de façon spécifique sur les différents tissus qui constituent la paroi intestinale. L'action de cette hormone a été appréciée en étudiant les variations présentées par la surface de chacune des assises composantes, au cours du traitement. La paroi de l'intestin est ici encore décomposée en 3 zones : épithélium initial ou primaire, épithélium de néo-

PLANCHE IX

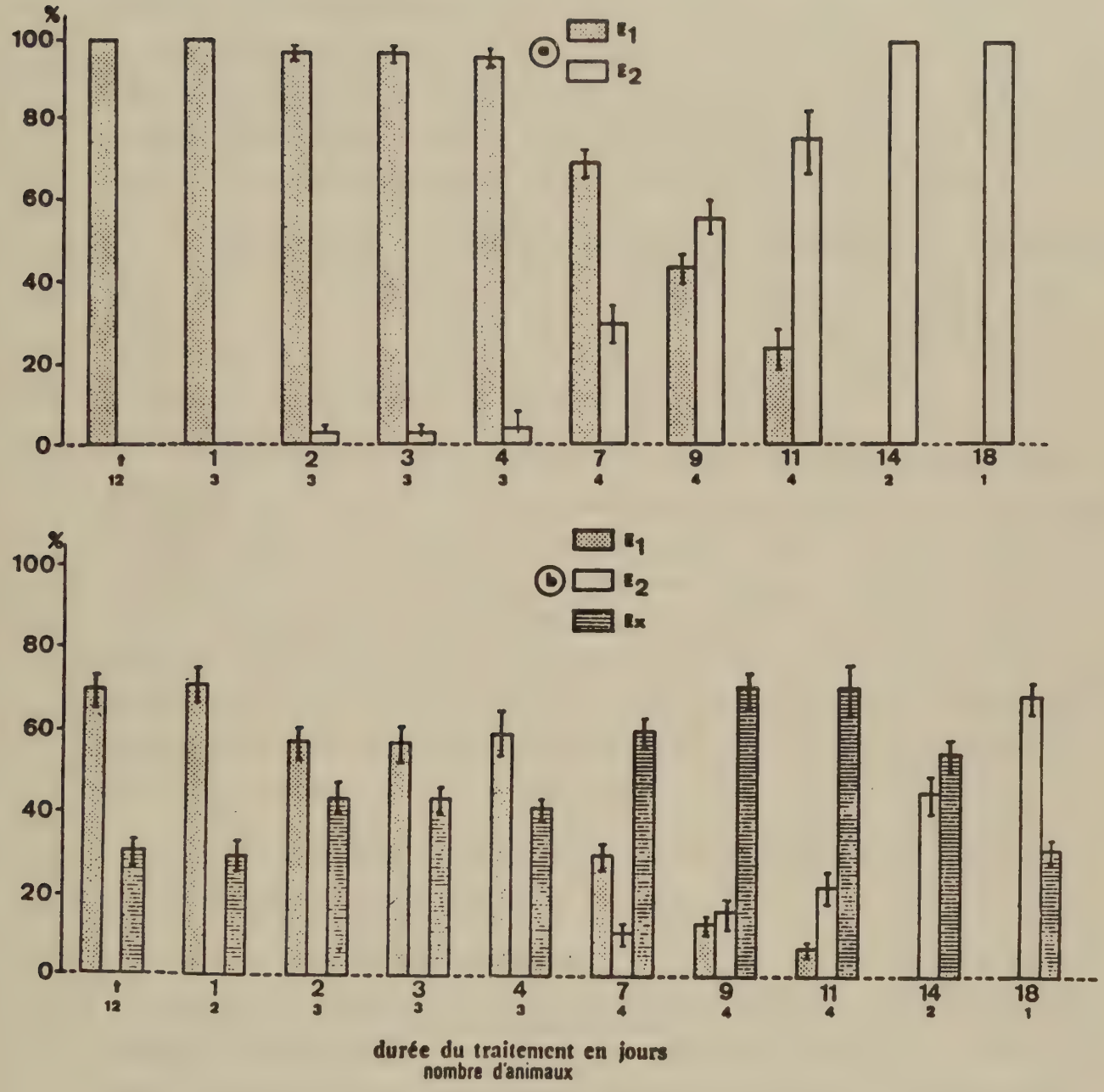
EFFETS DE LA THYROXINE EXOGENE SUR LES DIVERS TISSUS DE LA PAROI INTESTINALE.

fig. a. Importance des populations cellulaires dans les épithéliums primaire et secondaire.

fig. b. Surfaces des diverses zones de la paroi intestinale après traitement des larves du Crapaud-accoucheur par la thyroxine. Les surfaces de chacune des zones considérées, sont déterminées à partir de coupes transversales de l'intestin. Les résultats sont exprimés en pourcentages moyens ± erreurs-standard.

Abréviations :

E_1, épithélium primaire; E_2, épithélium secondaire; Ex, zone extraépithéliale; t, témoin.



durée du traitement en jours
nombre d'animaux

formation ou secondaire, et zone extraépithéliale (chorion, musculeuse et séreuse). La planimétrie est réalisée sur coupes semi-fines transversales obtenues à partir de l'intestin de larves d'Alyte. Les résultats sont figurés dans la planche IX, b.

Chez les larves témoins, l'épithélium primaire forme l'essentiel de l'intestin, puisque la surface de ce tissu représente environ 70 % de la surface totale de la paroi. A partir du 2ème jour de traitement par la thyroxine, l'épithélium primaire régresse pour disparaître au 14ème jour.

L'involution de l'épithélium larvaire est accompagnée du développement de la zone extraépithéliale. Cette dernière commence à s'épaissir après 2 jours de traitement hormonal et, à 7 jours, sa surface déterminée sur coupe transversale, représente 60 % de la paroi. Cette surface passe par un maximum (71 %) entre 9 et 11 jours de traitement.

Le développement de la surface occupée par les épithéliocytes secondaires est plus tardif. Jusqu'au 4ème jour du traitement, ces cellules sont peu nombreuses et la part qu'elles représentent dans la surface pariétale est faible. Après une semaine de traitement hormonal, l'épithélium secondaire est organisé en îlots de plus en plus grands. Leur fusion rapide donne naissance à une assise continue dont la surface ne cesse de croître. Au-delà de 14 jours, la thyroxine provoque le développement des villosités intestinales. La surface de l'épithélium devient alors prépondérante sur les coupes transversales de l'intestin.

C. Induction des Phénomènes histogénétiques par la thyroxine.

1. Incorporation de thymidine tritiée.

a - Indice de marquage.

Chez les larves d'Alytes obstetricans traitées par la thyroxine, la vitesse de prolifération cellulaire est appréciée dans chaque zone de la paroi intestinale par le calcul de l'indice de marquage (Planche X, a).

* Chez les larves témoins, le radioprécurseur est présent dans les noyaux de l'épithélium primaire, où l'indice de marquage atteint une valeur de 8 %. Aucun noyau marqué n'est aperçu dans les cellules souches des épithéliocytes secondaires. Dans la zone extraépithéliale, l'indice est inférieur à 1 %.

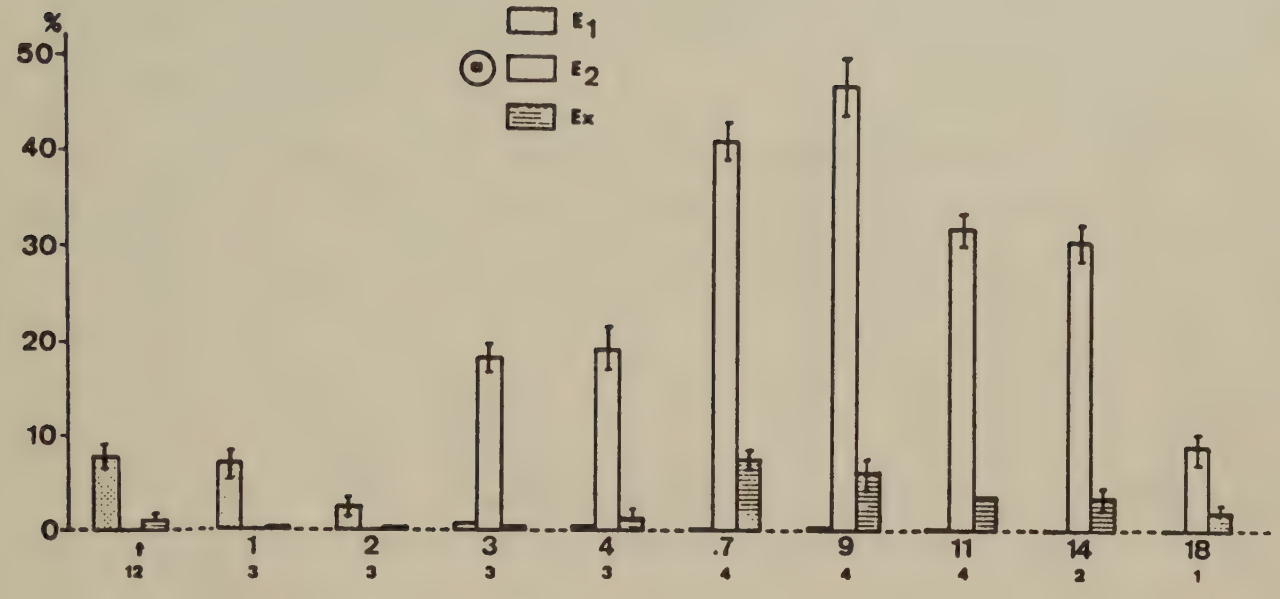
PLANCHE X

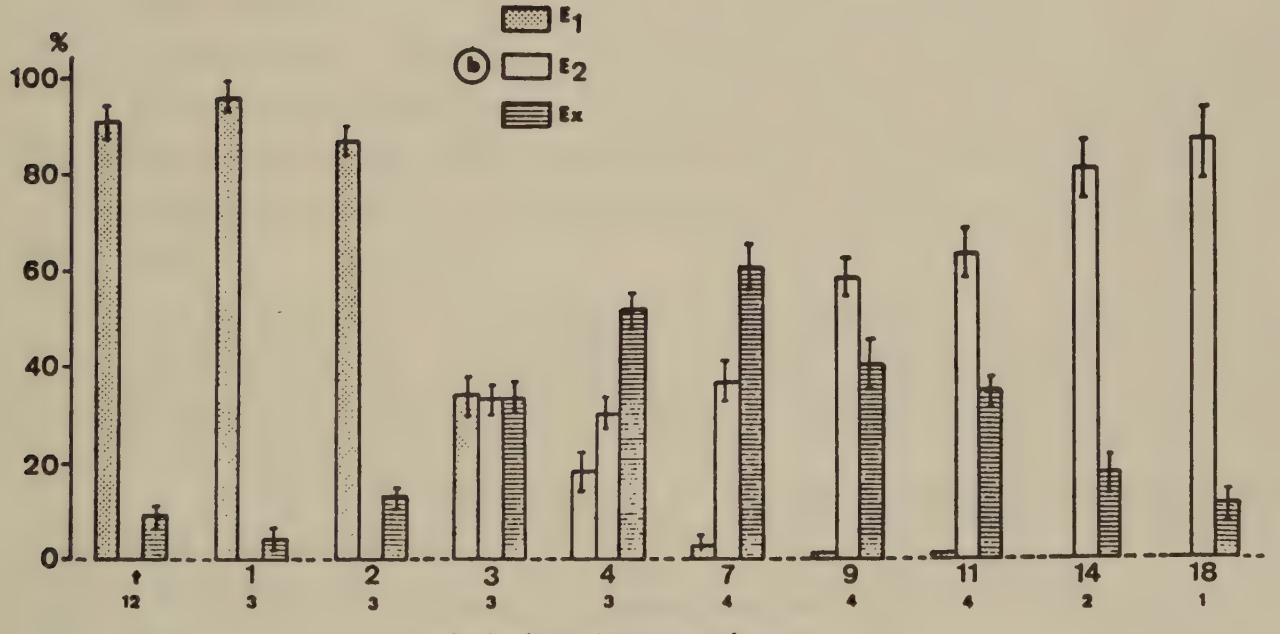
EFFETS DU TRAITEMENT PAR LA THYROXINE SUR L'INCORPORATION DE THYMIDINE TRITIEE.

fig. a. Indice de marquage correspondant à chaque zone de la paroi intestinale, au cours du traitement des larves d'Alyte par la thyroxine.

fig. b. Répartition numérique des noyaux marqués entre les diverses zones de la paroi intestinale, au cours de ce traitement hormonal.

Abréviations :
E_1, épithélium primaire; E_2, épithélium secondaire; Ex, zone extraépithéliale; t, témoin.





durée du traitement en jours
nombre d'animaux

* Chez les larves immergées dans la solution thyroxinée, l'incorporation de thymidine tritiée par les noyaux de l'épithélium primaire ne cesse de décroître au cours du traitement hormonal et, dès le 3ème jour, l'indice de marquage de ce tissu ne dépasse plus 1 %. La thyroxine déclenche la dégénérescence des épithéliocytes primaires et la synthèse de leur ADN est inhibée.

Pour une durée d'exposition à l'hormone inférieure à 3 jours, les noyaux des cellules souches incorporent rarement le précurseur. A partir du 3ème jour, un marquage nucléaire apparaît dans les îlots jointifs ou non d'épithéliocytes secondaires. L'indice croît et culmine à 9 jours avec une valeur de 46,9 %, sensiblement plus élevée qu'au climax naturel. L'hormone induit par conséquent la prolifération des épithéliocytes secondaires. Les radioautogrammes obtenus en microscopie électronique révèlent que la thymidine tritiée est essentiellement incorporée par la chromatine accolée à la membrane nucléaire des cellules souches (Planche XI).
Une incorporation du précurseur par les mitochondries est également remarquée. Au-delà d'un traitement de 9 jours, l'indice de marquage de l'épithélium secondaire diminue mais ne s'annule pas. La localisation des foyers de prolifération des épithéliocytes est désormais plus précise. Si le rythme des divisions cellulaires est plus faible, il est cependant suffisant pour permettre la mise en place de villosités qui oblitèrent la lumière intestinale.

Dans la zone extraépithéliale, l'incorporation de la thymidine tritiée augmente jusqu'au 7ème jour puis s'abaisse, sans que l'indice de marquage ne dépasse jamais 8 % (Dauça et Hourdry, 1977 [6]).

b - Estimation de la part prise par chaque assise pariétale dans l'incorporation.

L'indice de marquage ne permet pas de savoir quelle fraction de l'ADN néosynthétisé revient à chaque zone. L'importance de chacune des fractions est reflétée, sur coupe, par la répartition numérique des noyaux marqués dans la section. Cette répartition est appréciée en rapportant le nombre des noyaux marqués par zone au nombre total des noyaux marqués dans la section. Les valeurs sont exprimées par des pourcentages moyens pour chaque temps d'exposition des larves d'Alytes obstetricans à la thyroxine (Planche X, b; Dauça et Hourdry, 1977 [6]).

PLANCHE XI

INCORPORATION DE THYMIDINE TRITIEE PAR LES CELLULES SOUCHES INTESTINALES.

Radioautographie de l'intestin de larves d'Alytes obstetricans traitées par la thyroxine pendant 11 jours. La thymidine tritiée, injectée aux larves à la fin du traitement hormonal, a été incorporée au niveau de l'épithélium intestinal par les noyaux de plusieurs cellules embryonnaires (1, 4, 5, 6).
Le nucléole (nu) n'est pas marqué. Glut. OsO_4.phosphate. x 10.000.

nu
1
2
6
r
nu
4
3
5
2μ

* Chez les larves témoins, plus de 90 % des noyaux marqués sont situés dans l'épithélium primaire.

* Durant les deux premiers jours du traitement, les noyaux marqués demeurent essentiellement localisés dans l'épithélium primaire mais y deviennent de moins en moins nombreux. Au cours de cette période, le marquage nucléaire devient plus fréquent dans la zone extraépithéliale alors que les noyaux des cellules souches des épithéliocytes secondaires n'incorporent pas encore le précurseur radioactif. A partir du 3ème jour, les cellules souches commencent à se diviser. Leur nombre est cependant limité. Les noyaux marqués de ces cellules forment alors le tiers de la population des noyaux marqués pariétaux. Pour un traitement hormonal dépassant 3 jours, les noyaux ayant incorporé le précurseur augmentent en nombre, et ils sont aperçus en presque totalité dans l'épithélium secondaire et dans la zone extraépithéliale. Le pourcentage de ces noyaux ne cesse de s'élever dans l'épithélium secondaire. Il y devient prépondérant à partir de 9 jours d'immersion des larves dans la solution thyroxinée.

2. Analyse de la synthèse d'ADN intestinal.

a - Variations de l'activité spécifique de l'ADN intestinal.

Pour chaque durée du traitement par la thyroxine, la valeur moyenne de l'activité spécifique de l'ADN intestinal et son erreur-standard ont été calculées (Dauça et Hourdry, 1978 c[7]).

Le traitement hormonal d'un jour des larves d'Alytes obstetricans n'entraîne pas de modifications significatives dans l'activité spécifique de l'ADN intestinal. La valeur obtenue après 24 heures d'immersion des larves dans la T_4 (870 cpm/µg) est très voisine de celle que l'on obtient avec les larves témoins en prémétamorphose (800 cpm/µg).

La vitesse de synthèse de l'ADN intestinal diminue brutalement si le traitement est poursuivi de 2 à 4 jours. L'activité spécifique chute de manière significative ($p < 0,01$ entre 1 et 2 jours), jusqu'à une valeur moyenne minimale se situant entre 200 et 250 cpm/µg. Ce résultat s'accorde parfaitement avec les observations radioautographiques (Dauça et Hourdry, 1978b [4]), qui montrent que les noyaux de l'épithélium primaire sont moins fréquemment marqués, tandis que l'incorporation est encore faible dans l'épithélium secondaire et la zone extraépithéliale. La chute de la vitesse de synthèse de l'ADN intestinal résulte en fait de la dégénérescence de l'épithélium primaire provoquée par la thyroxine.

Entre le 4ème et le 9ème jour du traitement, la vitesse de synthèse de l'ADN augmente. L'activité spécifique s'accroît significativement ($0,01 < p < 0,02$) et culmine aux environs de 1100 cpm/µg chez les larves exposées pendant 9 jours à la thyroxine. Cette augmentation est due à la multiplication des cellules de la zone extraépithéliale et, plus encore à la prolifération des épithéliocytes secondaires, dont l'indice de marquage est de l'ordre de 50 % au 9ème jour du traitement hormonal.

Au-delà du 9ème jour, la vitesse de synthèse de l'ADN fléchit à nouveau, tandis que diminue l'incorporation de la thymidine tritiée par l'épithélium secondaire et la zone extraépithéliale. L'activité spécifique de l'ADN intestinal mesurée au 11ème jour du traitement par la T_4 (800 cpm/µg) est désormais proche de celle que l'on calcule chez les témoins.

b - Evolution du rapport protéines/ADN.

Contrairement à ce que l'on observe en métamorphose spontanée, le rapport protéines/ADN concernant l'intestin des larves traitées d'Alytes obstetricans, ne diffère pas sensiblement des valeurs obtenues chez les témoins (Planche VII, b). Au cours du développement post-embryonnaire naturel, la concentration plasmatique des hormones thyroïdiennes croît progressivement et déclenche de façon harmonieuse les phénomènes d'histolyse intestinale avant ceux d'histogénèse. Il est probable aussi que l'action de la T_4 et de la T_3 soit renforcée par celle d'autres facteurs. Les hormones du tissu interrénal pourraient intervenir. La concentration plasmatique de la corticostérone augmente chez les larves d'Anoures au climax naturel (Jaffe, 1981). D'autre part l'aldostérone accroît l'affinité des récepteurs nucléaires pour les hormones thyroïdiennes (Niki et coll., 1981). Au contraire, lors du traitement par la thyroxine, les têtards sont d'emblée soumis à une dose importante d'hormone, si bien que les épithéliocytes primaires et secondaires réagissent simultanément. Dès lors, histolyse et histogenèse se produisent simultanément et assurent la constance du rapport protéines/ADN (Dauça et Hourdry, 1981a [1]).

DISCUSSION

Parmi les facteurs humoraux intervenant dans le développement post-embryonnaire des larves d'Anoures les hormones thyroïdiennes occupent une place fondamentale. L'action directe de la T_3 et de la T_4 est démontrée pour différents organes des Amphibiens (Kaltenbach, 1968; Kaltenbach et Hobbs, 1972; Cohen et coll., 1978; Hourdry, 1980). Au niveau intestinal, cette action est établie par plusieurs séries d'observations. L'implantation de pastilles de cholestérol enrichies en thyroxine entraîne une dégénérescence locale de l'épithélium primaire (Barry, 1952; Lipson, 1965). L'intestin incorpore massivement les hormones thyroïdiennes radioactives, injectées au climax de la métamorphose (Ashley et Frieden, 1972; Dratman, 1974). La culture de fragments d'intestin en présence de thyroxine entraîne une nécrose des épithéliocytes larvaires et une prolifération anarchique des épithéliocytes secondaires (Pouyet et Hourdry, 1980).

La réponse des cellules intestinales aux hormones thyroïdiennes présente trois caractères importants : 1/. Elle n'est possible que si les cellules-cibles ont préalablement acquis leur compétence. 2/. Elle s'effectue avec une certaine latence. 3/. Elle est toujours spécifique.

COMPETENCE

La métamorphose des larves d'Anoures peut être obtenue à un stade précoce du développement, à condition d'administrer les hormones thyroïdiennes exogènes en concentration suffisante (Etkin, 1950; Moser, 1950; Kaye, 1961; Kollros, 1961; Kaltenbach, 1968; Tata, 1968; Knutson et Prahlad, 1971). Dès la formation de l'opercule, une métamorphose sub-complète peut être induite alors même que la thyroïde ne présente pas encore d'activité appréciable. A ce stade, beaucoup d'organes deviennent en effet compétents, c'est-à-dire, capables de répondre à l'hormone[x]. Cette compétence est acquise d'emblée (Etkin, 1950) ou progressivement (Kollros et McMurray, 1956; Heady et Kollros, 1964). Un degré minimal de différenciation histologique et la présence de récepteurs hormonaux sont nécessaires (Frieden

[x]Seule l'éminence médiane de l'hypothalamus acquiert tardivement sa compétence (Etkin, 1966).

et Just, 1970; Tata, 1970; Etkin et Gona, 1974). La compétence de l'intestin semble également précoce. Le traitement en effet par la thyroxine de jeunes larves (stades I-V) entraîne une réponse de l'intestin (Dauça et Hourdry, 1977 [6]).

LATENCE.

L'importance de cette latence dépend du degré de développement des larves qui sont soumises à l'action hormonale. La diminution de la longueur et du poids de l'intestin n'est manifeste qu'après une latence de 24 à 36 heures pour les larves prises aux stades VIII-XII et exposées à la T_3 (Carver et Frieden, 1977) et de 48 heures pour un traitement à la T_4 (Dauça et Hourdry, 1981a [1]). Au niveau cellulaire, les premiers signes d'autolyse s'installent dans l'épithélium primaire après un jour de traitement par la T_4 (Hourdry, 1971 b), mais l'épithélium secondaire ne prolifère pas avant au moins 3 jours d'immersion des larves dans la solution thyroxinée (Dauça et coll., 1976 [5]; Dauça, 1977; Hourdry et Dauça, 1977 [2]). L'existence d'une telle latence précédant la réponse est signalée au niveau de la queue (Derby, 1968; Weber, 1969; Kim et coll., 1977), du foie (Cohen, 1970; Atkinson et coll., 1972 b), de l'épiderme (Wright, 1973). Au cours de cette période, de durée variable selon les auteurs, des intermédiaires métaboliques actifs sont synthétisés (Hamburgh et coll., 1981).

SPECIFICITE.

La thyroxine agit directement sur l'intestin en y déclenchant des réponses spécifiques : histolyse de l'épithélium larvaire, histogenèse de l'épithélium secondaire et épaississement de la zone extraépithéliale. La dégénérescence de l'épithélium primaire induite par un traitement bref (moins de 3 jours) par la T_4 se traduit par une diminution de sa population cellulaire, une réduction de sa surface, une baisse constante de l'incorporation de thymidine tritiée, et une chute importante de la quantité d'ADN intestinal néosynthétisé. Cette diminution est directement imputable à la nécrose de l'épithélium larvaire. Par contre, après une latence de plusieurs jours, la thyroxine induit la prolifération des cellules souches basales de l'épithélium secondaire et la multiplication d'une partie des cellules de la zone extraépithéliale. Ces hyperplasies cellulaires sont responsables de l'augmentation de l'activité spécifique de

l'ADN intestinal. L'indice de marquage et la synthèse d'ADN culminent au même moment, après un traitement de 9 jours pour les larves d'Alytes obstetricans. L'épithélium intestinal secondaire des larves d'Anoures n'est pas le seul tissu dont la croissance est stimulée par les hormones thyroïdiennes. Le traitement par la thyroxine active la synthèse d'ADN et accroît l'activité mitotique dans la rétine et la cornée des larves d'Anoures (Kaltenbach et Hobbs, 1972), la T_4 comme la T_3 exercent également un effet mitogène sur l'épithélium du cristallin des Amphibiens adultes (Worgul et Rothstein, 1974; Weinsieder et Roberts, 1979). Au niveau du foie, l'action des hormones thyroïdiennes exogènes est plus discutée. Selon certains auteurs (Finamore et Frieden, 1960), la quantité d'ADN hépatique diminue au cours du développement post-embryonnaire des Anoures. Pour d'autres (Paik et coll., 1961; Cohen, 1970), elle reste constante et les hépatocytes constituent une population cellulaire stable. Selon Atkinson et coll. (1972) et Kistler et Weber (1975) les hormones thyroïdiennes stimulent la synthèse de l'ADN dans le foie, où elles provoquent une légère hyperplasie. Ces résultats sont confirmés par ceux de Smith-Gill (1979) qui, traitant des têtards de Rana pipiens par la T_3, obtient une stimulation de la synthèse de l'ADN hépatique, concomitante d'un renouvellement cellulaire. Chez ces mêmes animaux, la thyroxine induit une augmentation significative de la prolifération des cellules épidermiques basales (Wright, 1977; Wright et coll., 1981). L'hormone déclenche non seulement une forte activité mitotique de l'assise germinative épidermique, mais elle modifie aussi la durée des diverses phases du cycle cellulaire en raccourcissant notamment la phase S. De même, Chibon et Brugal (1969) ont montré que le traitement des larves de Pleurodeles waltlii par la thyroxine entraîne une diminution de la durée des phases T, S, G_2 et M du cycle cellulaire.

III - PHENOMENES HISTOGENETIQUES APRES ACTION CONJUGUEE DES RAYONS X ET DE LA THYROXINE.

Les cellules souches intestinales des têtards d'Anoures représentent un capital biologique particulièrement important. Présentes à l'état quiescent sous l'épithélium intestinal primaire pendant toute la période larvaire, elles sont une véritable jouvence pour l'intestin du futur adulte et constituent le point de départ d'une nouvelle organisation. Dans la mesure où la prolifération de ces cellules embryonnaires peut être stimulée à volonté par la thyroxine, il est intéressant d'apprécier les effets conjugués des rayons X et de la T_4 sur la structure de ces cellules, sur leur multiplication et sur les réactions manifestées par les diverses formations pariétales de l'intestin.

Depuis plus de 80 ans, de nombreux travaux ont montré que, dans les tissus en croissance, les cellules souches et les cellules qui en dérivent par prolifération sont particulièrement sensibles aux rayons X. Si la radiosensibilité des cellules indifférenciées appartenant aux cryptes de l'intestin des Mammifères a été particulièrement étudiée (Patt et Quastler, 1963; Hugon et Borgers, 1966a, b; 1968a; Trier et coll., 1968; Galjaard et coll., 1970; Withers et Elkind, 1970; Hagemann et Lesher, 1971; Potten et Hendry, 1975; Rijke et coll., 1975; Daburon et coll., 1975; Hamilton, 1977, 1978), celle des cellules embryonnaires de l'épithélium intestinal des larves d'Anoures n'a pas été testée. Par des techniques d'ordre cytologique, nous avons étudié dans un premier temps les conséquences du rayonnement X sur les cellules souches de l'épithélium intestinal secondaire, et nous avons analysé les modifications engendrées au niveau du tissu conjonctif intestinal. A cet effet, de jeunes larves (stades V-VII) d'Alytes obstetricans ont été exposées à une forte et unique irradiation abdominale.

Chez d'autres animaux, l'irradiation est associée à un traitement hormonal par la thyroxine. Deux modalités ont été retenues :

* Afin de savoir si la multiplication des cellules souches sous l'action de la T_4 est possible après irradiation, 27 larves ont été irradiées puis placées de 4 à 11 jours dans la solution thyroxinée.

* La multiplication amorcée par le traitement hormonal est-elle capable de supporter un fort rayonnement et d'être à nouveau stimulée par la thyroxine? Afin de répondre à cette question, 20 têtards ont été immergés de 4 à 7 jours dans une solution hormonale (durée critique pour la stimulation de la prolifération) puis irradiés, puis traités à nouveau pendant 2 à 3 jours par la thyroxine.

A. Effets des rayons X sur les tissus de la paroi intestinale.

Huit larves d'Alytes obstetricans ont été soumises à une irradiation unique de 3500 rads sans subir aucun traitement hormonal. L'intestin est ensuite prélevé et préparé pour une étude histologique (Dauça et Hourdry, 1979 a [8]).

1. Etude au microscope photonique.

Les rayons X ne provoquent aucune altération des épithéliocytes intestinaux primaires. Malgré le fort rayonnement utilisé, leur "bordure en brosse" demeure intacte, l'intégrité de leur noyau est conservée, et ces cellules restent fonctionnelles, les têtards irradiés continuant à s'alimenter. Par contre, beaucoup de cellules souches basales, qui sont à l'origine des futurs épithéliocytes secondaires subissent un processus de dégénérescence et, sur coupes semi-fines on peut reconnaître la présence de granulations toluidinophiles dans leur cytoplasme.

2. Observations ultrastructurales.

Au microscope électronique, les granulations toluidinophiles sont identifiables à des vacuoles autophagiques ou à leurs formes résiduelles, denses ou myéliniques. Certains de ces lysosomes présentent des dimensions considérables, supérieures à 5 microns (Planche XIII, b). Dans quelques cas, les noyaux des cellules souches ont un contour plissoté et leur contenu apparaît plus dense aux électrons, comme le sont les noyaux des cellules cryptales du duodénum chez les Mammifères irradiés (Hugon et Borgers, 1968 a).

B. Effets de l'action des rayons X suivie d'un traitement par la thyroxine.

1. Modifications cytologiques.

a - Microscopie photonique.

Les animaux témoins ont été simplement placés de 3 à 12 jours dans

la solution thyroxinée. Comme nous l'avons déjà souligné, cette hormone stimule la multiplication des cellules souches intestinales, qui forment rapidement des îlots sous l'épithélium primaire en cours d'altération.

Chez les larves irradiées puis traitées par l'hormone, l'épithélium intestinal primaire montre aussi d'évidents signes de dégénérescence. Cependant, des différences apparaissent de façon flagrante quand on les compare aux témoins. Les rayons X inhibent toute formation d'îlots de cellules embryonnaires et la multiplication des cellules souches est arrêtée. Par ailleurs, des débris d'épithéliocytes primaires pénètrent dans le tissu conjonctif sous-jacent. Une telle intrusion n'est jamais constatée chez les témoins thyroxinés, dont l'épithélium primaire altéré, séparé du tissu conjonctif par la barrière des cellules insulaires, est directement éliminé dans la lumière. Enfin, la fréquence des phagocytes augmente considérablement dans le tissu conjonctif épaissi. De nombreuses granulations toluidinophiles sont visibles dans ces cellules, dont certaines s'infiltrent entre les épithéliocytes primaires (Dauça et Hourdry, 1979 a [8]).

b - Microscopie électronique.

L'irradiation précoce des larves d'Anoures puis leur exposition à la thyroxine déclenchent trois grands types de modifications ultrastructurales.

* A l'intérieur du tissu conjonctif, on peut reconnaître des épithéliocytes primaires nécrosés renfermant de grandes vacuoles autophagiques et des corps résiduels, denses et myéliniques (Planche XII).

* Aucun îlot d'épithéliocytes secondaires n'est discernable. Cependant la multiplication de ces épithéliocytes est suggérée par la présence de petits groupes de cellules à haut rapport nucléoplasmique.

* Dans le tissu conjonctif, des cellules possèdent des pseudopodes et renferment de nombreux corps denses, correspondant aux granulations toluidinophiles observées en microscopie photonique. Certaines cellules sont identifiables à des leucocytes neutrophiles par leur présence dans les capillaires, leur noyau plurilobulaire et la petite taille des corps denses (moins de 0,3 micron). D'autres cellules contiennent de grands corps denses dont les dimensions peuvent dépasser 4 microns. De telles cellules sont des phagocytes, où les corps denses représenteraient les formes résiduelles de vacuoles hétérophagiques. La nature épithéliale du matériel absorbé est suggérée par le contact des phagocytes avec les épithéliocytes primaires en lyse, au niveau de la lame basale rompue et, également, par

PLANCHE XII

EFFETS DE L'ACTION CONJUGUEE DES RAYONS X ET DE LA THYROXINE.

Larve d'Alyte irradiée puis traitée par la thyroxine. A la base de l'épithélium intestinal et dans le tissu conjonctif, on aperçoit des débris d'épithéliocytes primaires (E_1) et des phagocytes (PC). On remarque également deux épithéliocytes secondaires (1 et 2).

Abréviations :

AV, vacuole autophagique; BL, membrane basale; CF, fibre de collagène; DB, corps dense; E_1, épithéliocyte primaire; M, mitochondrie; MW, figures myéliniques; N, noyau; PC, phagocyte; PS, pseudopode; RB, corps résiduel.

RB
E1
N
2
1
RB
DB
PC
BL
PC
E1
RB
AV
CF
AV
M
PS
E1
RB
PC
AV
RB
MW
DB

leur infiltration entre ces épithéliocytes. Une origine sanguine des phagocytes est très plausible, il s'agirait alors d'une population de macrophages vrais, mais on ne peut exclure aussi une origine mésenchymateuse. Après une irradiation, leucocytes neutrophiles et phagocytes migreraient vers l'épithélium primaire altéré, en absorberaient des fragments puis regagneraient le tissu conjonctif. Il est à noter qu'une telle intervention de phagocytes n'est jamais remarquée chez les animaux témoins.

2. Conséquences physiologiques.

a - Accélération des phénomènes d'histolyse.

Nombreux sont les phénomènes lytiques qui sont associés à une forte activité des enzymes lysosomales (Scharrer, 1966). Parmi celles-ci, l'activité de la phosphatase acide a été classiquement recherchée pour localiser et déterminer l'intensité des processus dégénératifs. Chez les larves d'Alytes obstetricans irradiées puis traitées par la thyroxine, l'activité phosphatasique acide a été visualisée sur coupes semi-fines d'intestin.

* Chez les larves non irradiées, l'activité phosphatasique acide reste strictement localisée dans l'épithélium intestinal primaire. Elle n'est rencontrée ni dans les îlots d'épithéliocytes secondaires, ni dans le tissu conjonctif.

* Chez les animaux irradiés, l'activité de l'enzyme est encore évidente dans l'épithélium primaire en dégénérescence, au niveau des lysosomes supranucléaires des cellules détruites. Elle l'est également dans les débris épithéliaux libérés dans le tissu conjonctif et dans les lysosomes des phagocytes (vacuoles hétérophagiques et corps résiduels).

b - Ralentissement des phénomènes histogénétiques.

Chez des larves ayant reçu de la thymidine tritiée, l'examen des radioautogrammes d'intestin a montré que la fréquence des noyaux marqués décroît dans l'épithélium et dans la zone extraépithéliale, lorsque le traitement par la thyroxine est précédé d'une irradiation (Dauça et Hourdry, 1979 a[8]). L'incorporation du radioprécurseur dans l'ADN nucléaire des épithéliocytes primaires est peu probable, puisque ces cellules dégénèrent. Les observations radioautographiques chez les animaux irradiés montrent que le précurseur radioactif est incorporé par les noyaux des épithéliocytes secondaires. Les études morphologiques ont montré que ces cellules sont caractérisées par un rapport nucléoplasmique élevé. Les résultats radioautographiques confirment d'autre part l'existence d'une prolifération faible et

diffuse des épithéliocytes secondaires chez de tels animaux.

C. Effets de l'irradiation précédée et suivie d'un traitement par la thyroxine.

Les larves d'Alytes obstetricans ont été traitées de 4 à 7 jours par l'hormone, irradiées puis traitées à nouveau par la thyroxine pendant 2 à 3 jours.

1. Microscopie photonique.

Le traitement préalable par la T_4 est d'une durée suffisante (4-7 jours) pour permettre l'apparition de petits îlots d'épithéliocytes secondaires, qui s'individualisent sous l'épithélium primaire en dégénérescence. Dans certains de ces épithéliocytes secondaires, on peut remarquer de fines granulations toluidinophiles. Des phagocytes sont aperçus dans le tissu conjonctif mais, contrairement au cas des animaux précocement irradiés, des débris d'épithéliocytes primaires sont rarement observés dans ce tissu.

2. Microscopie électronique.

Dans les îlots qui ont pu s'individualiser, beaucoup d'épithéliocytes secondaires ne montrent aucun signe d'altération. Leur caractère embryonnaire est mis en évidence par un rapport nucléoplasmique élevé, par la présence de nombreux polysomes et de quelques profils du réticulum endoplasmique granulaire dans la frange cytoplasmique (Planche XIII, a). Quelques épithéliocytes secondaires présentent toutefois les caractères d'une autolyse accentuée. Leur noyau devient pycnotique et très dense aux électrons. Des vacuoles autophagiques renfermant des mitochondries, des ribosomes et des citernae ergastoplasmiques, sont observées dans le cytoplasme, ainsi que des corps résiduels riches en matériel membranaire. Des phagocytes reconnaissables à leurs pseudopodes et à leurs corps denses sont aperçus dans les espaces conjonctifs et, d'autre part, entre les épithéliocytes primaires en lyse.

PLANCHE XIII

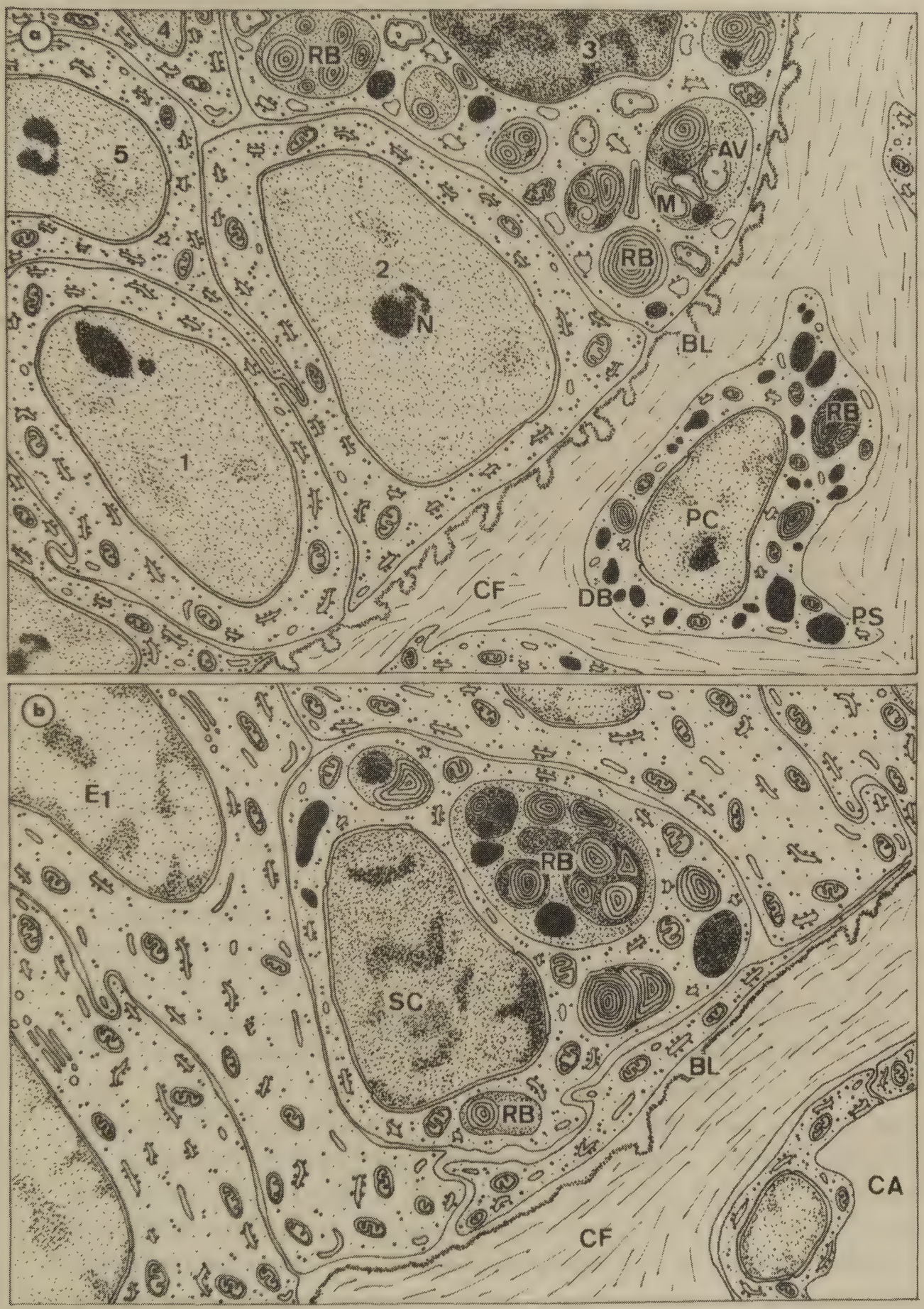
EFFETS DE L'ACTION CONJUGUEE DES RAYONS X ET DE LA THYROXINE (Suite).

fig. a. Larve traitée par la thyroxine, puis irradiée et traitée à nouveau par l'hormone. Dans cet îlot d'épithéliocytes secondaires (E_2), l'une des cellules (3) présente des signes de dégénérescence, et on y remarque des vacuoles autophagiques (AV), ainsi que des corps résiduels (RB). A droite, un phagocyte (PC).

fig. b. Larve irradiée mais non traitée par la thyroxine. Cellule souche en cours de nécrose (SC), à la base des épithéliocytes primaires (E_1).

Abréviations :

AV, vacuole autophagique; BL, membrane basale; CF, fibre de collagène; CA, capillaire; DB, corps dense; E_1, épithéliocyte primaire; M, mitochondrie; N, noyau; PC, phagocyte; PS, pseudopode; RB, corps résiduel.


a
4
RB
3
5
AV
M
RB
2
N
BL
RB
1
PC
CF
DB
PS
b
E1
RB
SC
BL
RB
CA
CF

DISCUSSION

Chez les têtards d'Alyte irradiés, les rayons X entraînent la destruction des cellules souches de l'épithélium intestinal secondaire. Les cellules à caractères embryonnaires présentes sous l'épithélium intestinal larvaire sont particulièrement radiosensibles. Des observations analogues ont été réalisées dans les cellules en prolifération des cryptes intestinales de Mammifères irradiés, où des vacuoles autophagiques et des noyaux pycnotiques ont été fréquemment signalés (Montagna et Wilson, 1955; Wiernik et coll., 1962; Detrick et coll., 1963; Patt et Quastler, 1963; Matsuzawa et Wilson, 1965; Hugon et Borgers, 1966 a; Trier et Browning, 1966). De même, chez les Insectes, des foyers de nécrose ont été induits par les rayons X dans les disques imaginaux alaires (Spreij, 1971; Haynie et Bryant, 1977) et dans les cellules souches de l'épiderme (Sasaki et Sakka, 1978).

Nos observations radioautographiques et le calcul de l'indice de marquage ont également démontré une diminution de la prolifération cellulaire chez les têtards irradiés puis traités par la thyroxine, comparés aux contrôles seulement traités par l'hormone. Un tel effet a été remarqué dans les cryptes de l'intestin des Mammifères (Wiernik et coll., 1962; Hugon et coll., 1965; Trier et Browning, 1966). Chez certains Urodèles, une moindre prolifération cellulaire a été mise en évidence dans le blastème permettant la régénération d'un membre amputé (Carlson, 1974; Wertz et coll., 1976) ou, encore, dans l'épiderme au moment de la métamorphose (McCurdy et coll., 1974). Enfin, chez la Drosophile, la fréquence mitotique s'abaisse dans le disque imaginal alaire (Haynie et Bryant, 1977). La faible densité des divisions cellulaires peut être imputée à la dégénérescence des cellules souches indifférenciées, soumises au rayonnement X. Ce point de vue est avancé par Sasaki et Sakka (1976, 1978) qui, chez une mouche irradiée, expliquent la faible importance de l'épiderme et de l'épithélium intestinal par la raréfaction du nombre des cellules embryonnaires viables de ces tissus. Une telle hypothèse est compatible avec ce que nous remarquons dans l'intestin du têtard d'Alyte simplement irradié, puisque de nombreuses cellules souches des épithéliocytes secondaires présentent des signes de nécrose. Lors de la prolifération cellulaire, le rayonnement X peut aussi intervenir sans provoquer d'altérations immédiatement observables au microscope. Ainsi, l'irradiation peut empêcher l'initiation de la synthèse de l'ADN ou, encore, freiner sa croissance (Beaupain, 1978). L'action des rayons X entraînerait

l'apparition de cassures ou de liaisons anormales dans les chaînes d'ADN (Watanabe, 1974; Makino et Okada, 1975; Painter et Young, 1975; Tolmach et Jones, 1977; Han et Elkind, 1978). Les quantités d'ADN contenues par certains chromosomes seraient également modifiées. De tels déséquilibres induits par l'irradiation conduiraient à la mort cellulaire, après plusieurs divisions (Hopwood, 1974; Han et Elkind, 1978). Selon Patt et Quastler (1963), les rayons X pourraient aussi bloquer le cycle cellulaire à la fin de la phase G_2 et différer la mitose. Après irradiation puis traitement hormonal des têtards d'Alyte, la division des rares cellules souches encore viables de l'épithélium intestinal est prouvée par l'existence de noyaux marqués appartenant à des épithéliocytes secondaires. Toutefois, l'indice de marquage épithélial demeure faible jusqu'au 7ème jour, suggérant que ces cellules souches en apparence saines se divisent peu, peut-être à la suite d'une altération de leur matériel génétique. De même, chez les têtards traités par la thyroxine, irradiés et traités à nouveau par l'hormone, on ne peut écarter l'hypothèse d'une altération de l'ADN chez tel ou tel épithéliocyte secondaire des îlots, ayant encore un aspect sain. Une telle altération de l'ADN pourrait limiter les potentialités de ces cellules.

Le fait que l'indice de marquage s'élève brusquement chez les larves maintenues 9 jours dans la solution de thyroxine, après l'irradiation, suggère que l'épithélium secondaire est capable d'une récupération avec le temps. Des observations analogues ont été réalisées chez les Mammifères irradiés, dont les cryptes peuvent régénérer tardivement, même après de fortes doses irradiantes. Le mécanisme de cette récupération est inconnu. Il est probable que les hormones thyroïdiennes modulent l'action des rayons X sur les cellules souches de l'épithélium intestinal des larves d'Anoures. Ceci est à rapprocher des résultats de Guernsey et coll. (1980). Ces auteurs ont constaté que la capacité des rayons X à induire, in vitro, des transformations néoplastiques dans des cellules de Mammifères est inhibée lorsque ces cellules sont cultivées en absence d'hormones thyroïdiennes. Cette capacité est restaurée dès que la triiodothyronine est introduite dans le milieu de culture. Les hormones thyroïdiennes seraient des facteurs indispensables dans le déclenchement ou la potentialisation des transformations induites par les rayons X dans les cellules.

L'irradiation des larves d'Alyte entraîne toujours l'apparition de phagocytes dans la muqueuse intestinale, contrairement au seul traitement par la thyroxine. L'origine de ces cellules n'est pas complètement éclaircie. Comme le signalaient déjà Trier et Browning (1966) au niveau de l'intestin humain, certains phagocytes seraient des leucocytes neutrophiles, dont des formes typiques, n'ayant pas encore participé à des processus phagocytaires, ont d'ailleurs été aperçues dans le tissu conjonctif. Toutefois, l'acquisition d'une activité phagocytaire des cellules conjonctives est également possible, comme cela est admis dans le thymus (Braun, 1965; Klug, 1966).

CONCLUSION

Les remaniements histologiques qui se produisent au cours de la métamorphose des Amphibiens Anoures sont de deux types. Histolytiques, ils aboutissent alors à la disparition totale d'organes typiquement larvaires, tels que les branchies ou la queue. Histogénétiques, ils entraînent par exemple l'épaississement de l'épiderme, l'apparition de glandes cutanées ou le développement des membres antérieurs. La particularité de l'épithélium intestinal tient au fait que les deux phénomènes antagonistes se succèdent dans ce tissu. A l'assise primaire non villeuse qui dégénère, se substitue un épithélium secondaire plissé.

Il ressort de nos résultats que le remplacement de l'épithélium intestinal est assuré par la prolifération de cellules embryonnaires situées à la base de l'épithélium larvaire. Dans les conditions naturelles, la multiplication des cellules souches ne commence qu'après le début de la dégénérescence de l'épithélium primaire.

Nos analyses radioautographiques montrent que seul l'épithélium primaire incorpore la thymidine tritiée avant le stade XVI. Par la suite, ce tissu n'incorpore plus le radioprécurseur. Il dégénère et ses débris sont émis dans la lumière intestinale.

A la fin de la prométamorphose et au début du climax, la thymidine tritiée est préférentiellement incorporée par les noyaux des cellules souches basales. Selon l'espèce considérée, le marquage débute soit dans une région précise de l'épithélium intestinal, notamment au niveau de son point de rebroussement, ou apparaît en différents points de la base du tissu. Chez l'Alyte, l'indice de marquage des cellules souches passe de 28 % en fin de prométamorphose à 33 % au climax. La valeur obtenue en prométamorphose pour l'indice de marquage des cellules souches appelle ici quelques réserves. S'il est facile à ce stade de repérer les cellules souches dont le noyau est marqué, il n'en est pas de même encore pour les cellules dont le noyau n'a pas incorporé le radioprécurseur. Aussi est-il difficile d'apprécier exactement l'importance de la population totale des cellules souches en prométamorphose alors qu'au climax cette détermination est à la fois plus aisée et plus précise car les îlots secondaires sont nettement individualisés.

L'activité spécifique de l'ADN intestinal (cpm/µg ADN) diminue en prométamorphose en rapport avec la baisse d'incorporation de thymidine tritiée

remarquée dans les épithéliocytes primaires. Au climax, l'activité spécifique s'élève. L'augmentation constatée reste cependant faible alors que l'indice de marquage des cellules souches est élevé. A ce stade, les cellules souches en division ne représentent encore qu'une faible partie de l'ensemble des cellules intestinales.

Au cours des mêmes évènements, la zone extraépithéliale s'épaissit sous la double action d'une légère hyperplasie des cellules conjonctives et d'une accumulation des fibres musculaires résultant du raccourcissement de l'intestin.

La prolifération des cellules souches intestinales peut être induite expérimentalement. L'immersion des larves d'Anoures dans une solution thyroxinée déclenche de façon directe la multiplication des cellules souches. La "poussée mitotique" des cellules souches débute après une latence dont l'importance est fonction de nombreux paramètres : concentration hormonale et température du bain d'élevage, espèce considérée, âge des larves expérimentées...

Nos expériences ont montré que chez les larves d'Alyte prises en fin de prémétamorphose (stades X-XI), traitées par la thyroxine exogène à la concentration finale de 10^{-7} g/ml, l'indice de marquage des cellules extra-épithéliales de l'intestin par la thymidine tritiée passe par un maximum après 7 jours. L'indice de marquage des cellules souches de l'épithélium culmine à 9 jours avec une valeur de 46,9 % très supérieure à celle obtenue pour ces cellules lors du climax de la métamorphose naturelle. Ce pic est contemporain d'une élévation significative de l'activité spécifique de l'ADN intestinal.

Par ailleurs, l'aptitude des cellules souches à répondre à l'action de la thyroxine est acquise très précocement. Leur prolifération peut être induite par l'hormone dès les premiers stades post-embryonnaires (stades I-V).

Comme la plupart des cellules embryonnaires, les cellules souches de l'épithélium intestinal des larves d'Anoures sont particulièrement radiosensibles. Le rayonnement X provoque d'importantes altérations qui entraînent leur dégénérescence alors qu'il affecte assez peu les épithéliocytes primaires différenciés.

L'irradiation de l'intestin larvaire entraîne un fort ralentissement de la prolifération des cellules souches, sans supprimer cependant leur capacité à se multiplier. Chez les larves d'Alyte irradiées puis traitées par la thyroxine, l'indice de marquage des cellules souches, quoique inférieur à celui obtenu chez les larves uniquement thyroxinées, n'est cependant pas nul. Il tend même à augmenter au cours du traitement hormonal. De même, amorcée par un traitement préalable à la thyroxine, la multiplication des cellules souches se poursuit après irradiation.

La métamorphose spontanée ou induite de l'intestin des larves d'Anoures n'entraîne jamais l'apparition de phagocytes. L'épithélium intestinal primaire altéré est complètement éliminé dans la lumière de l'organe alors que les débris de la queue en régression sont absorbés par des histiocytes qui ont acquis des propriétés phagocytaires. Par contre, l'irradiation des larves d'Anoures couplée à un traitement par la thyroxine déclenche systématiquement l'invasion de l'intestin par de nombreux macrophages. Ces derniers s'infiltrent entre les épithéliocytes primaires en dégénérescence et en phagocytent les débris.

CHAPITRE II

DIFFERENCIATION DES CELLULES SOUCHES EN EPITHELIOCYTES ABSORBANTS.

Les cellules dérivant au climax de la prolifération des cellules souches acquièrent rapidement leur ultrastructure définitive. Dès le stade XXII, les épithéliocytes secondaires présentent un volume accru et une forme allongée. La croissance des épithéliocytes intestinaux entraîne la disparition de la pluristratification engendrée lors de la "poussée mitotique". L'épithélium intestinal du juvénile est désormais unistratifié et il est marqué par d'importantes villosités, à la base desquelles des cellules souches indifférenciées conservent la capacité de se diviser et d'assurer ainsi le constant renouvellement du tissu.

Un gradient croissant de différenciation structurale (McAvoy et Dixon, 1978a) et de spécialisation fonctionnelle (McAvoy et Dixon, 1978b) s'établit progressivement de la base au sommet des villosités de l'intestin des Amphibiens juvéniles. Un tel gradient est également décrit dans l'intestin des Mammifères, entre les cryptes et les crêtes des villosités (cf. revues de Padykula, 1962; Lipkin, 1973). Au terme des processus de différenciation affectant l'épithélium intestinal de la jeune grenouille, trois principaux types cellulaires apparaissent et assurent les fonctions de digestion, d'absorption et de sécrétion : les épithéliocytes absorbants, les cellules muqueuses et les cellules entéro-endocrines (Planche XIV).

Les cellules muqueuses caliciformes constituent une population cellulaire numériquement peu importante, comparativement à celle des épithéliocytes absorbants. La maturation des cellules à mucus est contemporaine de leur migration, et elle est achevée à mi-hauteur des villosités. Le mucus ségrégé dans des vésicules supra-nucléaires est alors directement déversé dans la lumière intestinale. Les cellules entéro-endocrines sont rares, inégalement réparties le long du tractus digestif et intercalées entre les épithéliocytes absorbants. Leurs caractères structuraux ont été largement décrits (Gabe, 1972; Kataoka, 1974; Falkmer et coll., 1978). Le contenu de leurs vésicules sécrétrices a été analysé (Assan et coll., 1969; El Salhy et coll., 1981). A la base des épithéliocytes, il est aussi possible de reconnaître des phagocytes. Ces cellules d'origine conjonctive sont caractérisées par leurs nombreux granules denses et elles ont migré entre les

PLANCHE XIV

PRINCIPAUX TYPES CELLULAIRES PRESENTS DANS L'EPITHELIUM INTESTINAL SECONDAIRE.

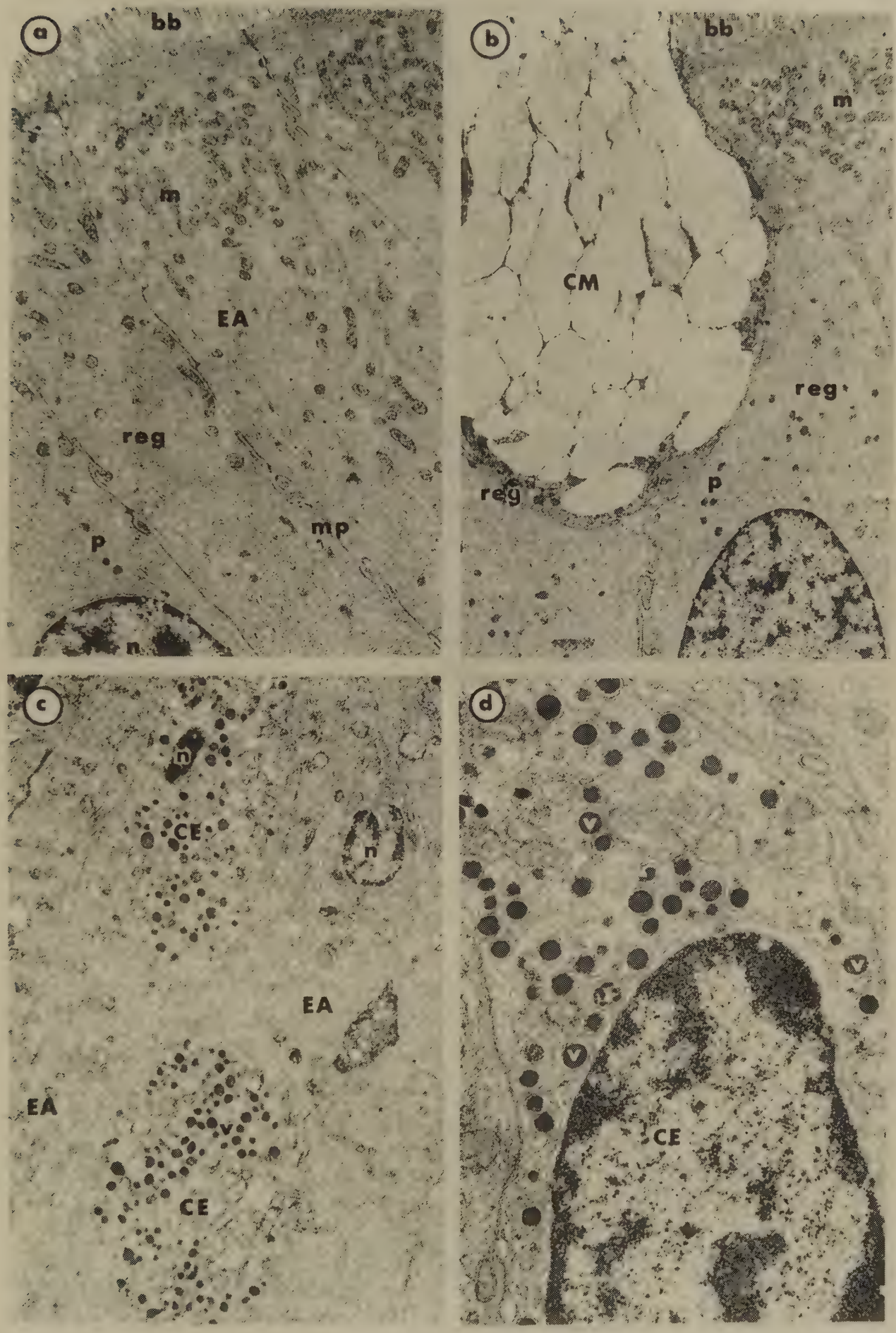
fig. a. Vue générale de plusieurs cellules absorbantes (EA), caractérisées par leur "bordure en brosse" (bb). Quelques peroxysomes (p) sont présents à proximité du réticulum endoplasmique granulaire (reg) et du noyau (n). On peut noter l'abondance des mitochondries (m), et leur disposition souvent parallèle aux membranes plasmiques latérales (mp). Glut. OsO_4.phosphate. x 7.200.

fig. b. La cellule muqueuse caliciforme (CM) vide son contenu dans la lumière intestinale. Cette cellule est encadrée par des épithéliocytes absorbants dans lesquels on retrouve les organites déjà décrits dans la figure (a). Glut. OsO_4.phosphate. x 5.600.

Figures c et d : Cellules entéro-endocrines.

fig. c. Deux cellules endocrines (CE) sont reconnaissables parmi des épithéliocytes absorbants (EA), grâce à leurs nombreuses vésicules (v) dont le contenu est opaque aux électrons. n,noyau. Glut. OsO_4.phosphate. x 6.500.

fig. d. Détail des vésicules (v), à coeur dense, présentes dans le cytoplasme des cellules entéro-endocrines (CE). Glut. OsO_4. phosphate. x 12.400.


a
bb
m
EA
reg
p
mp
n
b
bb
m
CM
reg
reg
p
c
n
CE
n
EA
EA
v
CE
d
v
v
v
CE

cellules épithéliales après avoir traversé la lame basale (Chin et Wong, 1977).

Les épithéliocytes absorbants représentent plus de 90 % des cellules de l'épithélium intestinal des Anoures (McAvoy et Dixon, 1978 a). Cependant, malgré leur importance numérique, ils n'ont fait l'objet d'aucune étude approfondie. Ceci est d'autant plus surprenant que les épithéliocytes absorbants assurent les fonctions capitales de digestion et d'absorption, fonctions qui sont profondément affectées lors de la métamorphose. Les larves en prémétamorphose sont essentiellement microphages lorsqu'elles sont pélagiques (Xenopus laevis,...) ou herbivores et détritivores quand elles sont plus strictement benthiques (Rana temporaria, Rana catesbeiana, Bufo bufo,...), alors que les animaux métamorphosés deviennent carnivores ou insectivores. Compte-tenu de ce changement de régime alimentaire, les caractères structuraux et biochimiques des épithéliocytes secondaires absorbants ont été examinés et comparés à ceux des épithéliocytes primaires. Deux systèmes cellulaires ont été particulièrement retenus : la "bordure en brosse" intestinale porteuse des enzymes digestives, et les peroxysomes, organites cytoplasmiques visualisables sur coupes par l'activité de leur catalase. Le choix de la "bordure en brosse" intestinale, comme marqueur de la différenciation et de la maturation des épithéliocytes intestinaux absorbants, s'explique par le fait que les hydrolases qui y sont insérées représentent un élément fondamental de la physiologie des épithéliocytes absorbants. Les peroxysomes, organites caractérisés par la présence d'une catalase et d'au moins une oxydase susceptible de produire de l'eau oxygénée (De Duve et Baudhuin, 1966), sont aussi d'excellents marqueurs de la différenciation cellulaire, et leur ontogenèse est souvent liée au degré de maturation des cellules qui les renferment (Holmes et Masters, 1978; Böck et coll., 1980). Nous avons donc cherché à savoir s'il existe ou non une corrélation entre le développement post-embryonnaire de l'intestin des larves d'Anoures, la morphogenèse des peroxysomes et l'activité de la catalase.

I - BORDURE EN BROSSE INTESTINALE ET ENZYMES DIGESTIVES.

La présentation de nos résultats calque notre démarche expérimentale. Des têtards de Rana catesbeiana (espèce américaine) ont été utilisés. Les variations d'activité des hydrolases portées par la "bordure en brosse" intestinale ont été étudiées au cours de la métamorphose spontanée et induite. L'isolement et la purification de la "bordure en brosse" marquant l'apex des épithéliocytes absorbants ont été réalisés à divers stades du développement naturel. La composition enzymatique de la membrane des microvillosités a été déterminée chez les adultes puis comparée à celle des larves. Les protéines insérées dans la "bordure en brosse" intestinale ont été dissociées de leur support, séparées par électrophorèse et identifiées.

A. Activités spécifiques des enzymes digestives.

Contrairement aux hydrolases de la "bordure en brosse" intestinale de Mammifères (Bernier et Rey, 1977), les enzymes digestives des Anoures (à l'exception de la phosphatase alcaline) et les modifications que subissent leurs activités spécifiques durant la métamorphose naturelle ou induite, ont été assez peu étudiées.

1. Variations en métamorphose spontanée.

Les activités de plusieurs glucidases (tréhalase, maltase, glucoamylase) de la phosphatase alcaline et de la γ-glutamyltransférase (primitivement γ-glutamyltranspeptidase) sont présentes dans les homogénats intestinaux des Anoures larvaires, juvéniles et adultes. Par contre, l'intestin des Amphibiens est dépourvu de tout activité saccharasique ou lactasique (Parsons et Prichard, 1965; Gosrau, 1973; Hourdry et coll., 1979). Chez les adultes et les juvéniles, et à un moindre degré chez les larves, les enzymes digestives détectées se répartissent selon un gradient décroissant d'activité de l'avant à l'arrière de l'intestin. Dans le cas de la phosphatase alcaline, cette distribution est confirmée par les observations cytochimiques réalisées sur l'intestin de Bufo vulgaris (Chieffi et Carfagna, 1960), de Rana temporaria (Brown et Millington, 1968), de Rana pipiens (Kaltenbach et coll., 1977) et de Rana catesbeiana (Hourdry et Hugon, 1979). Les modifications du régime alimentaire, au cours du développement post-embryonnaire des Amphibiens, ne sont pas précédées par la disparition de telle ou telle

activité enzymatique. Au contraire, on observe un accroissement des activités dans l'intestin antérieur des individus nouvellement métamorphosés (Hourdry et coll., 1979).

2. Variations en métamorphose induite.

Les variations des activités des enzymes de la "bordure en brosse" ont été examinées chez des larves de Rana catesbeiana prises en prémétamorphose (stades IX-XI) et traitées par la thyroxine (Dauça et coll., 1980a [9]).

Contrairement à ce que l'on observe en métamorphose spontanée, les activités spécifiques de la glucoamylase, de la maltase, de la tréhalase et de la leucyl-naphthylamidase diminuent durant les 10 premiers jours du traitement hormonal. Au bout de 15 jours d'immersion des larves dans la solution thyroxinée, les épithéliocytes primaires sont complètement remplacés par les épithéliocytes secondaires. A ce stade du traitement, les activités de la tréhalase et de la leucyl-naphthylamidase augmentent légèrement sans atteindre toutefois les valeurs obtenues pour les témoins.

Le comportement de la phosphatase alcaline est sensiblement différent. L'activité de l'enzyme augmente significativement après 3 jours de traitement hormonal. L'observation cytochimique à l'échelle ultrastructurale révèle une réaction particulièrement intense au niveau de la "bordure en brosse" des épithéliocytes intestinaux primaires. Chez les larves immergées dans la thyroxine pendant 7 jours, l'activité de la phosphatase alcaline intestinale chute. Cette baisse s'explique par la dégénérescence des épithéliocytes larvaires et, aussi, par le fait que les cellules souches qui commencent à proliférer ne sont pas encore engagées dans des processus de différenciation. A 10 jours, une augmentation substantielle de l'activité phosphatasique alcaline est constatée à nouveau dans les homogénats intestinaux. Les études cytochimiques réalisées en microscopie photonique (Kaltenbach et coll., 1977) ou électronique (Dauça et coll., 1980a [9]) montrent que, dans l'intestin des larves de Rana pipiens ou de Rana catesbeiana traitées pendant 10 jours par la DL-Thyroxine, une forte activité phosphatasique alcaline est présente sur la "bordure en brosse" différenciée des épithéliocytes secondaires absorbants.

L'activité de la γ-glutamyltransférase (γ-GTF) s'élève au cours du traitement hormonal. Elle passe par un maximum entre 7 et 10 jours, au paroxysme des procesus histolytiques et histogénétiques. Le rôle physiologique exact de la γ-GTF intestinale n'est pas connu. L'implication de cette

enzyme dans les mécanismes d'absorption des acides aminés et de certains peptides a été suggérée (Garvey et coll., 1976; Meister et coll., 1977) et discutée (Bertheloot et coll., 1980). La γ-GTF, dont l'activité est accrue au cours de la métamorphose induite, pourrait intervenir efficacement dans la digestion et peut-être l'absorption de métabolites utiles à l'histogénèse de la nouvelle muqueuse, à un moment où l'animal ne s'alimente pas.

B. La membrane des microvillosités.

1. Formation des microvillosités.

La croissance et la prolifération des microvillosités apicales sont les premières manifestations cytologiques de la différenciation des épithéliocytes absorbants secondaires, issus de la multiplication des cellules souches. La formation de la "bordure en brosse" intestinale a été étudiée en détail par Bonneville et Weinstock (1970), au cours du développement post-embryonnaire naturel des larves de Xenopus laevis. Selon ces auteurs, de petites vésicules d'origine golgienne apparaissent et s'accumulent sous la cytomembrane apicale. La même concentration vésiculaire est constatée lors de la formation de la"bordure en brosse"intestinale des Mammifères (Bennett, 1970; Bennett et Leblond, 1971; Moxey et Trier, 1979). Les vésicules confluent et entrent en contact avec la membrane plasmique. De leur fusion naissent des expansions membranaires correspondant à autant de rudiments de microvillosités. Simultanément, des paquets de filaments rectilignes ou incurvés apparaissent, s'allongent et adhèrent à la cytomembrane. Ils constitueront le squelette interne des microvillosités. Sur leur face externe, le glycocalyx fibreux apparaît. Les microvillosités augmentent rapidement en nombre et en taille, de sorte qu'en fin de métamorphose la "bordure en brosse" des épithéliocytes intestinaux absorbants est complètement formée (Planche XV, a, b et c).

L'acquisition par la "bordure en brosse" des enzymes responsables des fonctions de digestion et d'absorption représente l'étape finale de la maturation fonctionnelle des épithéliocytes absorbants. Au terme de la métamorphose naturelle (Hourdry et Hugon, 1979) ou induite artificiellement par la thyroxine (Dauça et coll., 1980a [9]) l'activité phosphatasique alcaline est visualisée sur coupes au niveau de la membrane des microvillosités, dans les cavités golgiennes (saccules, vésicules) et dans diverses autres structures cytoplasmiques (vacuoles et citernae du réticulum endoplasmique).

Par leur membrane, les vésicules golgiennes contribuent à la morphogenèse des microvillosités. Par leur contenu enzymatique, ces mêmes vésicules participent à la maturation physiologique des épithéliocytes absorbants, en apportant les hydrolases digestives à la "bordure en brosse" et en assurant leur renouvellement. Dans l'épithélium intestinal des Anoures, comme dans celui des Mammifères (Hugon et Borgers, 1968 b), des vésicules contenant notamment la phosphatase alcaline migrent de façon continue des régions golgiennes à la "bordure en brosse".

2. Isolement et purification de la membrane des microvillosités.

La forte activité phosphatasique alcaline visualisée par les techniques cytochimiques au niveau de la "bordure en brosse" intestinale des larves d'Anoures laisse suggérer que, comme chez les Mammifères (Crane et coll. 1976), les hydrolases digestives des Amphibiens sont associées à la membrane des microvillosités. Afin de déterminer la composition enzymatique avec plus de précisions et de définir ses variations lors du développement post-embryonnaire, l'isolement et la purification de la "bordure en brosse" intestinale sont apparus comme une condition préalable indispensable. Ces opérations ont été réalisées à l'aide de la technique de Schmitz et coll. (1973), initialement mise au point pour l'intestin humain et utilisée avec succès chez la plupart des Mammifères. L'homogénéisation de la muqueuse intestinale de Rana catesbeiana en présence de tampon Tris-mannitol (2 mM-50 mM) provoque le broyage des épithéliocytes et la rupture de la "bordure en brosse" en fragments. Cette méthode assure une précipitation satisfaisante des microsomes et des membranes plasmiques latérales par les ions Ca^{2+}, préalablement à la ségrégation des fragments de la "bordure en brosse".

Le degré de purification des membranes des microvillosités est apprécié en comparant les activités spécifiques du culot final enrichi en membranes (P_2) à celles de l'homogénat initial (H), pour plusieurs marqueurs enzymatiques. Chez les Mammifères, la lactase et la sucrase constituent les marqueurs privilégiés des microvillosités intestinales. Ces deux hydrolases étant absentes de l'intestin des Anoures (Hourdry et coll., 1979) nous avons choisi d'autres enzymes comme marqueurs : la phosphatase alcaline, la γ-glutamyltransférase, la glucoamylase, la maltase et la tréhalase.

Les activités de la phosphatase alcaline s'accroissent d'un facteur 13 dans la fraction P_2 des larves de Rana catesbeiana et d'un facteur 15 dans cette même fraction, chez les adultes. Les coefficients de concentration

des activités de la γ-glutamyltransférase, de la glucoamylase, de la maltase et de la tréhalase varient de 9 à 10 chez les larves et de 11 à 13 chez les adultes (Dauça et coll., 1979b [10], 1980b [11]).

Les coefficients de concentration obtenus pour les enzymes portées par les microvillosités des Amphibiens Anoures coïncident avec les valeurs indiquées pour ces mêmes enzymes dans l'intestin d'autres Vertébrés. Avec la même technique, la phosphatase alcaline est concentrée 14 fois par Schmitz et coll. (1973) après purification des "bordures en brosse" de l'intestin humain, 13 fois par Raul et coll. (1978) pour la muqueuse intestinale du rat adulte, et 9 fois par Crane et coll. (1979) pour celle d'un Sélacien comme la Roussette. Après une modification légère de la méthode originale, Kessler et coll. (1978) ont trouvé chez le rat, le hamster et le lapin, une augmentation de l'ordre de 15 fois de l'activité spécifique de la phosphatase alcaline dans le culot final P_2. Chez les Mammifères, les coefficients de concentration des autres hydrolases (γ-glutamyltransférase, glucoamylase, maltase et tréhalase) sont voisins de celui de la phosphatase alcaline. Schmitz et coll. (1973) signalent pour l'intestin humain une concentration de 14 fois de la tréhalase, tandis que Galand et Forstner (1974) obtiennent chez le rat des concentrations de l'ordre de 13 fois pour cette même enzyme et de 11 fois pour la maltase. Des degrés de concentration sensiblement plus faibles sont obtenus pour ces même enzymes, chez les Vertébrés inférieurs : dans des conditions expérimentales similaires aux nôtres, la maltase et la tréhalase de l'intestin de Roussette (Sélaciens) ont été respectivement concentrées 11 et 7 fois par Crane et coll. (1979).

L'existence d'une éventuelle contamination des fractions P_2 enrichies en fragments de "bordure en brosse" par des éléments nucléaires ou des organites cytoplasmiques, a été recherchée en analysant l'ensemble du culot au microscope électronique. Le culot P_2 obtenu à partir de la muqueuse intestinale des Amphibiens est très comparable aux fractions enrichies en fragments de "bordure en brosse" provenant de l'intestin de Poulet (Tilney et Mooseker, 1971) et de Mammifères (Hubscher et coll., 1965; Forstner et coll., 1968; Schmitz et coll., 1973; Billington et Nayudu, 1975; Seetharam et coll., 1977; Maroux et Louvard, 1977). Les préparations finales sont caractérisées par leur homogénéité (Planche XV, d, e). Le plus souvent, les fragments de "bordure en brosse" ont l'aspect de vésicules closes, de taille et de formes variables, fréquemment remplies de matériel dense. Il n'est pas rare

PLANCHE XV

MICROVILLOSITES DE L'EPITHELIUM INTESTINAL SECONDAIRE.

figures a, b et c : "Bordure en brosse" intestinale, in situ.

fig. a. Du côté de la lumière intestinale (lu), les épithéliocytes possèdent un ensemble de microvillosités (mv) parfaitement identiques, qui constituent la "bordure en brosse". Le squelette interne des microvillosités est formé de filaments (f) qui se prolongent dans le cytoplasme apical, formant ainsi un feutrage dense qui exclut la présence dans cette zone, d'organites comme les mitochondries (m). Glut. OsO_4.phosphate. x 30.000.

fig. b. Les microvillosités (mv) présentent un revêtement externe fibreux ou glycocalyx (gl). f, filaments; lu, lumière intestinale. Glut. OsO_4.phosphate. x 40.000.

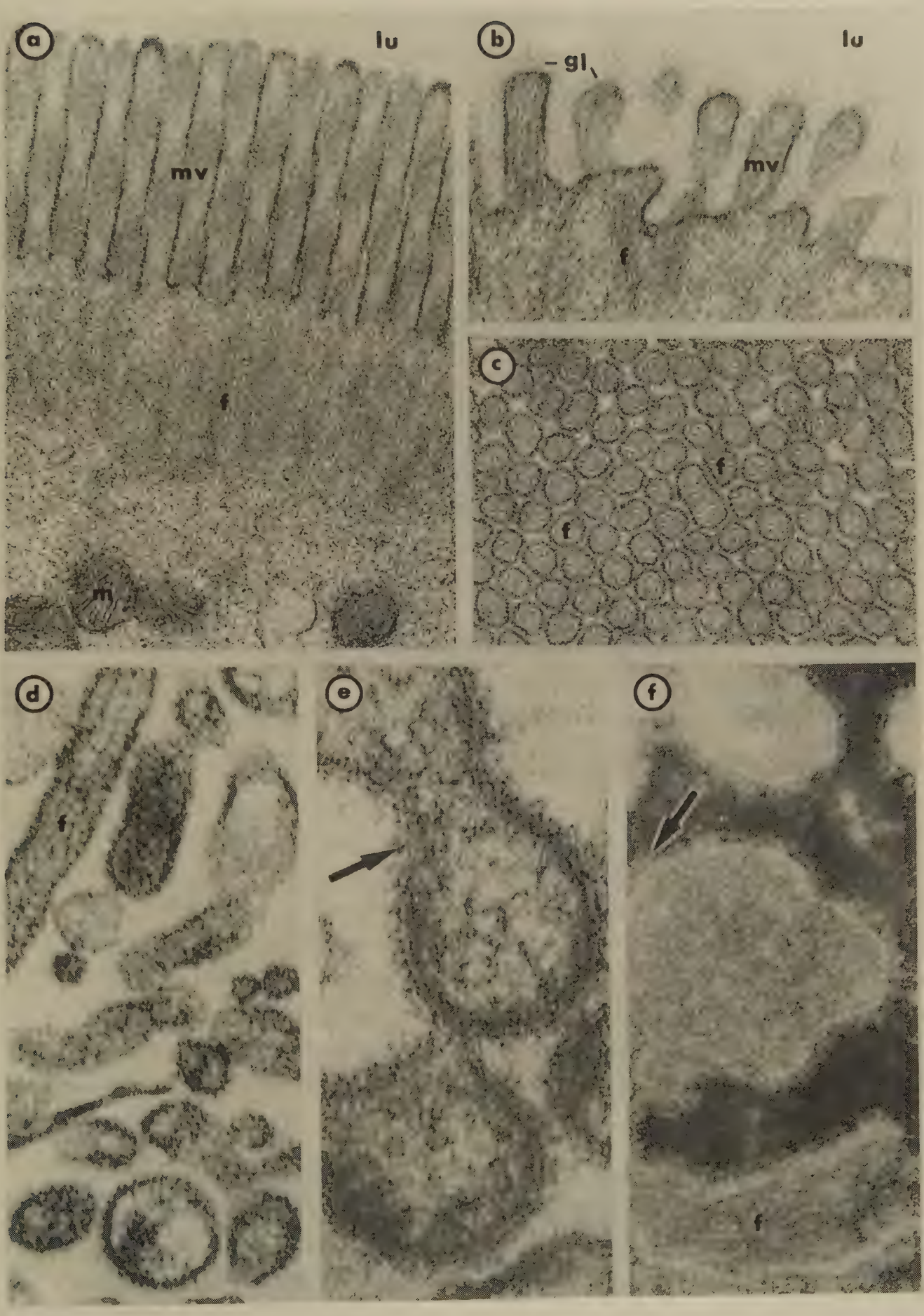
fig. c. Coupes transversales des microvillosités. f, filaments. Glut. OsO_4.phosphate. x 46.000.

figures d, e et f : Isolement et purification de la "bordure en brosse" intestinale.

fig. d. Electronographie de la fraction (P_2) enrichie en fragments de "bordure en brosse". Des vésicules, à contenu dense, sont visibles ainsi que des microvillosités remplies de filaments (f). Glut. OsO_4.phosphate. x 115.000.

fig. e. Détail des vésicules. La structure tripartite de la membrane des microvillosités est reconnaissable. La face externe des vésicules est garnie d'un matériel granuleux (flèche). Glut. OsO_4.phosphate. x 330.000.

fig. f. Fraction enrichie en fragments de "bordure en brosse", observés après coloration négative. La membrane présente un revêtement externe continu de particules élémentaires (flèche). Des filaments (f) sont reconnaissables à l'intérieur des fragments de "bordure en brosse". Phosphotungstate de sodium. x 120.000.


a
lu
mv
f
m
b
lu
gl
mv
f
c
f
f
d
f
e
f
f

d'observer dans ces préparations des microvillosités quasi-intactes, contenant encore des microfilaments. A fort grossissement, la structure tripartite de la membrane des microvillosités est visible. La face externe des vésicules est garnie d'un matériel granuleux qui les fait ressembler à des roues dentées. Les vésicules issues d'une suspension du culot P_2 présentent un aspect tout à fait caractéristique après coloration négative par l'acide phosphotungstique. Leurs membranes possèdent en effet un revêtement continu de particules élémentaires, dont le diamètre est compris entre 40 et 60 Å (Planche XV, f). Ces particules sont le plus souvent globuleuses et sont fixées exclusivement sur la face externe des membranes. Elles sont identiques à celles déjà décrites chez le rat (Louvard et coll., 1973, 1975), le hamster (Johnson, 1967, 1969; Benson et coll., 1971), le lapin (Oda et Seki, 1965; Louvard et coll., 1975), le porc (Louvard et coll., 1975; Maroux et Louvard, 1977) et l'homme (Maestracci, 1976). Ces particules semblent spécifiques de l'intestin puisqu'elles n'ont jamais été signalées dans d'autres "bordures en brosse", dont celle du rein (Berger et Saktor, 1970). Chez les Amphibiens, les particules élémentaires représentent probablement les sites des activités hydrolasiques, comme cela a été démontré chez les Mammifères après solubilisation des particules par la papaïne (Oda et Seki, 1966; Johnson, 1969; Louvard et coll., 1975; Maestracci, 1976).

3. Comparaison des compositions enzymatiques de la "bordure en brosse" larvaire et adulte.

L'isolement et la purification de la "bordure en brosse" intestinale chez les Amphibiens larvaires et adultes montrent que la phosphatase alcaline, la γ-glutamyltransférase, la glucoamylase, la maltase et la tréhalase correspondent toutes à des enzymes digestives associées à la membrane des microvillosités. Les rendements totaux obtenus pour les disaccharidases, la glucoamylase et la γ-glutamyltransférase sont compris entre 74 et 95 % (Planche XVI). Des valeurs aussi élevées indiquent que les activités des enzymes ne sont pas affectées par les diverses étapes du protocole expérimental.

Au contraire, la phosphatase alcaline a un rendement total plus faible puisqu'il est de 70 % chez le têtard et de 56 % seulement chez l'adulte. Bien que l'activité spécifique de l'enzyme dans le culot P_2 soit très élevée, son rendement dans cette fraction n'est que de 14 % chez les larves, et de 16 % chez les adultes. Les résultats cytochimiques concernant la phosphatase alcaline ont montré que l'activité de l'enzyme est non seulement

PLANCHE XVI

COMPARAISON DES COMPOSITIONS ENZYMATIQUES DE LA BORDURE EN BROSSE INTESTINALE DES LARVES ET DES ADULTES.

La muqueuse intestinale des larves et adultes de Rana catesbeiana a été homogénéisée et traitée par le chlorure de calcium. L'homogénat (H) est centrifugé à 2.000 g pendant 10 minutes, donnant un culot (P_1) et un surnageant (S_1). La centrifugation à 20.000 g pendant 15 minutes du surnageant (S_1) conduit à la formation d'un culot (P_2) enrichi en fragments de "bordure en brosse", et à un surnageant final (S_2). Les dosages enzymatiques ont été réalisés sur chacune des fractions.

* Act. spéc : Activité spécifique exprimée en unités internationales par gramme de protéines.

† Moyenne ± erreur-standard.

**Le rendement indiqué correspond à la moyenne des rendements obtenus.

COMPOSITION ENZYMATIQUE

DE LA BORDURE EN BROSSE INTESTINALE LARVAIRE ET ADULTE

		STADE	Nombre animaux	FRACTIONS				
				H	P_1	P_2	S_2	Rendement**
Proteines	%	Larve	32	100	47,5±1,4†	2±0,1	25,7±1	75,3±1,9
		Adulte	10	100	44,7±2,9	3±0,2	33,7±1,9	81,5±4,6
Phosphat. alcaline	Act.* spéc.	Larve	32	173±14	165±14	2131±177	50±6	
		Adulte	10	165±18	121±12	2441±430	14±1	
	%	Larve	32	100	47,6±1,5	14,3±0,9	8,6±1,2	70±2,3
		Adulte	10	100	32,6±1,8	16,3±1	7,2±1,2	56,1±3
γ-Glutamyl transférase	Act. spéc.	Larve	13	7,8±0,7	10,2±0,9	73±10	2±0,4	
		Adulte	10	27±1,8	32±1,6	328±37	4,3±1	
	%	Larve	13	100	69±3	17,8±1	5,7±0,6	92,7±2,8
		Adulte	10	100	54,5±3,6	36,1±2,4	4,9±0,8	95,5±5,5
Gluco-amylase	Act. spéc.	Larve	12	43±3	37±4	423±37	22±3	
		Adulte	10	31±2,3	22±2,3	396±48	11±1,4	
	%	Larve	12	100	43,2±1,6	19±1,4	15,5±2,2	77,6±2,2
		Adulte	10	100	30,5±2	37,2±2	11,8±0,9	79,5±4
Maltase	Act. spéc.	Larve	11	60±6	56±6	572±59	41±6	
		Adulte	9	41±1,8	31±2,8	477±57	21±1,7	
	%	Larve	11	100	45,5±2,7	18,5±1,8	18,3±1,8	82,3±3,3
		Adulte	9	100	32±2,1	34,6±2,7	17,4±0,2	84±5,6
Tréhalase	Act. spéc.	Larve	11	7,6±0,8	7,3±0,8	72±11	1,9±0,3	
		Adulte	10	10±0,9	9,2±0,6	106±17	1,4±0,3	
	%	Larve	11	100	49,2±2	17,8±1,2	7,5±1,5	74,5±2
		Adulte	10	100	43,1±2,1	30,5±1,5	5,6±1,5	79,2±3,2

présente au niveau de la "bordure en brosse", mais qu'elle est également détectée sur les membranes latérales, dans les cavités golgiennes, dans certains lysosomes des épithéliocytes et même dans le tissu conjonctif (Chieffi et Carfagna, 1960; Botte et Buonanno, 1962; Brown et Millington, 1968; Kaltenbach et coll., 1977; Hourdry et Hugon, 1979). Aussi, le faible rendement obtenu pour la phosphatase alcaline dans la fraction P_2 s'explique par le fait que cette enzyme n'est pas un marqueur fiable de la membrane apicale des épithéliocytes intestinaux absorbants.

Chez les Amphibiens Anoures, le passage du stade larvaire au stade adulte s'accompagne d'un enrichissement des "bordures en brosse" intestinales en hydrolases digestives (Planche XVI). Cet enrichissement est modique pour la phosphatase alcaline dont le rendement est de 14 % chez le têtard et passe à 16 % chez l'adulte. Par contre, il est plus important pour les autres enzymes, dont le rendement est compris entre 30 et 37 %, alors qu'il n'est que de 17 à 19 % chez les larves. Cette différence est une conséquence de la substitution d'épithélium intestinal survenant à la métamorphose. Chez les têtards, la fraction des hydrolases digestives incorporées à la membrane des microvillosités bordant l'apex des épithéliocytes primaires est faible, tandis que cette fraction est plus importante pour les enzymes de la digestion associées à la "bordure en brosse" des épithéliocytes secondaires de l'adulte.

Les activités spécifiques de la phosphatase alcaline et des glucidases mesurées à partir des homogénats intestinaux ou des fractions enrichies en membranes microvillositaires, ne présentent pas de modifications importantes au cours du développement post-embryonnaire des Anoures. La comparaison des activités spécifiques obtenues chez les têtards et les adultes, montre qu'elles varient peu (Planche XVI). Par contre, l'activité spécifique de la γ-glutamyltransférase de l'intestin de l'adulte est 3 à 4 fois supérieure à celle du têtard. Cette enzyme étant impliquée dans les mécanismes de digestion, et peut-être d'absorption, des acides aminés et de certains peptides, l'élévation de l'activité spécifique de la γ-GTF chez l'adulte serait compatible avec le changement de régime alimentaire qui accompagne les évènements de la métamorphose (Dauça et coll., 1980b [11]).

C. Evolution des Protéines de la "bordure en brosse" intestinale.

L'isolement et la purification de la "bordure en brosse" intestinale de Rana catesbeiana, obtenus avec succès à divers stades du développement

naturel a permis d'approfondir l'analyse des protéines digestives au cours de la métamorphose. Dans ce but, ces molécules ont été dissociées de leur support membranaire et solubilisées par action ménagée du dodécylsulfate de sodium (SDS), puis discriminées par électrophorèse sur gel d'acrylamide (4,5-8 %) en tampon discontinu (Dauça et coll., 1981b [12]).

1. Evolution du profil protéique au cours du développement.

Afin de standardiser les dépôts avant électrophorèse, le degré de pureté des préparations enrichies en fragments de "bordure en brosse" est déterminé pour les différents stades du développement naturel de Rana catesbeiana. Seules ont été retenues les préparations finales (P_2) renfermant 2 à 3 % des protéines initiales de la muqueuse intestinale (H) et caractérisées par une activité spécifique de la phosphatase alcaline au moins dix fois plus élevée. Dans ces conditions, pour chaque stade considéré, les résultats fournis par les électrophorèses des protéines de la "bordure en brosse" colorées par le bleu brillant de Coomassié, se sont révélés très reproductibles. Les électrophorégrammes obtenus font apparaître une hétérogénéité du contenu protéique de la "bordure en brosse" intestinale des Amphibiens.

Quatorze bandes protéiques sont bien visibles chez les têtards. Les masses moléculaires correspondantes, déterminées selon la technique de Weber et Osborn (1975), varient entre 37.000 et 313.000 daltons. Le nombre des bandes protéiques passe à 16 chez les individus juvéniles nouvellement métamorphosés, et à 22 chez les adultes, avec une gamme de masses moléculaires s'échelonnant de 28.500 à 313.000 daltons.

Les bandes les plus apparentes sont essentiellement représentées par des protéines de masses moléculaires élevées. Sept protéines, chez les larves et les juvéniles, et 8, chez les adultes, possèdent une masse moléculaire supérieure à 150.000 daltons. Ces protéines sont les composantes principales de la "bordure en brosse" de l'intestin de Rana catesbeiana. Dans l'ensemble, la métamorphose affecte assez peu la répartition des protéines lourdes, à la différence des protéines de masses moléculaires inférieures à 150.000 daltons. Chez les juvéniles, où l'épithélium intestinal vient de se mettre en place, et chez les adultes, le nombre des protéines légères augmente sensiblement. D'autre part, dans des conditions expérimentales identiques, certaines bandes sont plus larges et plus intensément colorées sur les électrophorégrammes des adultes (Planche XVII).

PLANCHE XVII

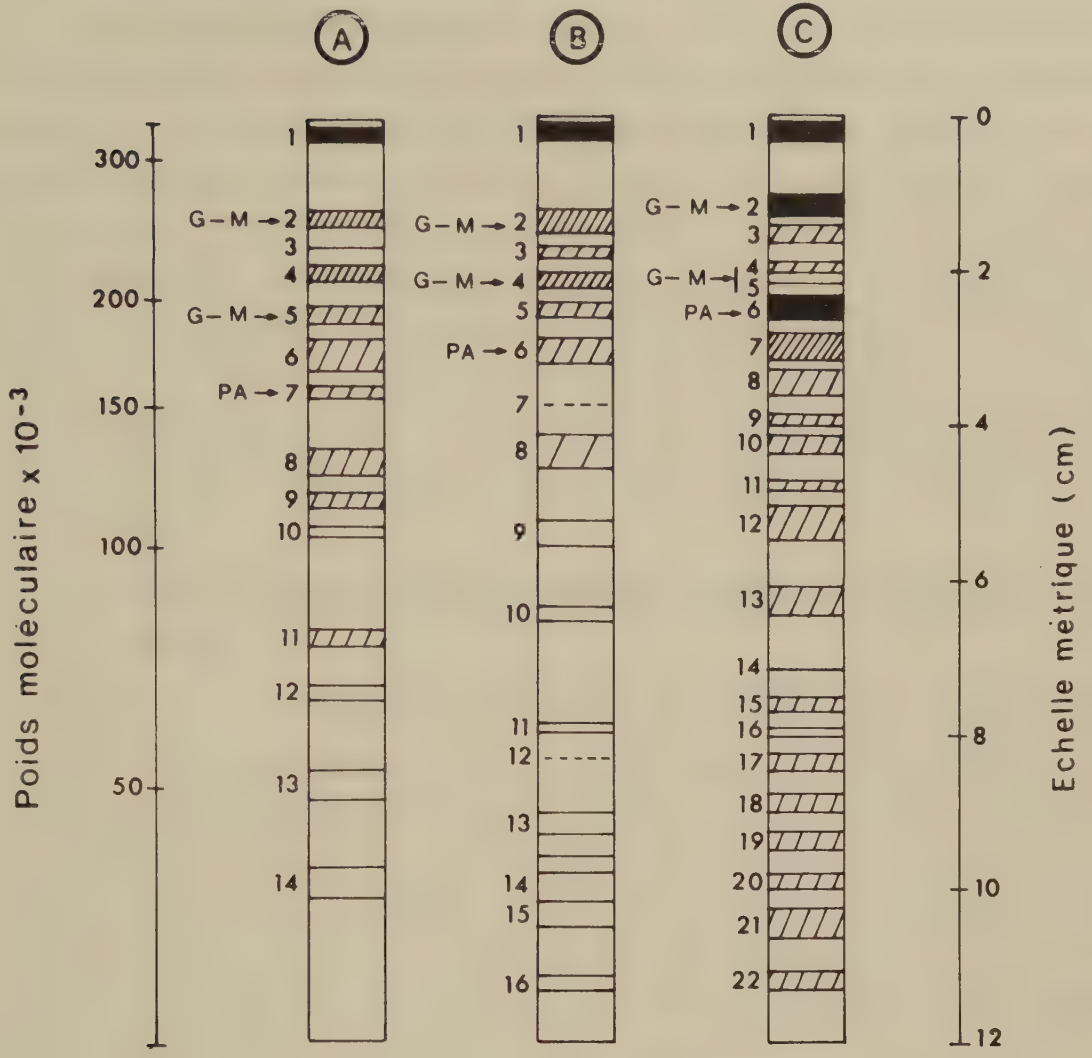
PROFIL ELECTROPHORETIQUE DES PROTEINES ET ENZYMES DES MICROVILLOSITES.

Comparaison des électrophorégrammes obtenus à partir des protéines solubilisées de la "bordure en brosse" intestinale de larves (A), juvéniles (B) et adultes (C) de Rana catesbeiana. Ces diagrammes résument les résultats obtenus à la suite de 8 électrophorèses indépendantes pour (A) et (C), et de 4 pour (B). Les activités enzymatiques du complexe glucoamylase/maltase (G-M) et de la phosphatase alcaline (PA) ont été recherchées. Les positions de ces enzymes sont indiquées.

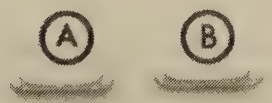
DETECTION COLORIMETRIQUE DE L'ACTIVITE ALCALINE.

La localisation colorimétrique de l'activité phosphatasique alcaline a été réalisée après électrophorèse des protéines de la "bordure en brosse" intestinale de larves (A) et d'adultes (B) de Rana catesbeiana. La phosphatase alcaline larvaire présente une mobilité électrophorétique plus grande que la phosphatase alcaline adulte. Leurs positions sont indiquées sur les gels (flèches).

PROFIL ELECTROPHORETIQUE DES PROTEINES & ENZYMES
DE LA BORDURE EN BROSSE INTESTINALE



DETECTION COLORIMETRIQUE DE L'ACTIVITE
PHOSPHATASIQUE ALCALINE



2. Evolution du profil glycoprotéique.

La technique de Glossmann et Neville (1971) appliquée aux gels, après électrophorèse, révèle qu'un certain nombre des protéines présentes dans les membranes des microvillosités sont des glycoprotéines. Quel que soit le stade de développement envisagé, seules les glycoprotéines d'une masse moléculaire supérieure à 150.000 daltons sont détectées. Chez le têtard, 4 pics majeurs bien individualisés correspondent aux protéines 1, 2, 4 et 5. Une large bande couvre l'emplacement des protéines 6 et 7, tandis qu'une bande fine correspond à la protéine 3. Les six premières bandes des juvéniles et les sept premières bandes des adultes correspondent à des glycoprotéines, cependant les protéines 4 et 5 des adultes ne sont représentées que par une seule bande glycoprotéique.

3. Etude du profil et des caractères enzymatiques au cours du développement.

a - Evolution des enzymes de la "bordure en brosse" intestinale.

De toutes les hydrolases digestives, seule la phosphatase alcaline a pu être directement détectée sur gel par coloration spécifique, grâce à la méthode de Louvard et coll. (1975). La localisation de cette enzyme a été confirmée et celles de la γ-glutamyltransférase, de la glucoamylase, de la maltase et de la tréhalase ont été déterminées après fractionnement du gel en tranches de 1mm d'épaisseur, puis recherche de chacune des activités enzymatiques dans les diverses tranches.

La réaction colorimétrique spécifique de l'activité phosphatasique alcaline entraîne l'apparition d'une large bande rouge sur le gel. Les valeurs moyennes des Rf sont respectivement:0,28 chez le têtard, 0,26 chez le juvénile et 0,25 chez l'adulte. Identifiée par voie biochimique, l'activité de cette enzyme réside dans une région présentant pour Rf : 0,27-0,30 chez la larve, 0,24-0,27 chez le juvénile et 0,25-0,28 chez l'adulte. Chez les têtards de Rana catesbeiana, l'activité phosphatasique alcaline est essentiellement associée à la bande 7 des protéinogrammes et correspond à une glycoprotéine ayant pour masse apparente 152.000 $\pm$ 3.000 daltons. Après la métamorphose, la même activité est présente au niveau de la bande de masse moléculaire 167.000 $\pm$ 3.000 daltons et correspond aux glycoprotéines 6 des juvéniles et 7 des adultes. La mobilité électrophorétique de la phosphatase alcaline est donc sensiblement plus élevée chez le têtard que chez le juvénile ou l'adulte (Planche XVII).

Deux complexes Maltase-Glucoamylase apparaissent systématiquement, quel que soit le stade considéré. La maltase présente une activité maximale coïncidant avec la protéine 2 chez les têtards(MM : 245.000 daltons), les juvéniles (MM : 245.000 daltons) ou les adultes (MM : 255.000 daltons). Une activité beaucoup plus faible est également détectée au niveau de la protéine 5 de la larve (MM : 190.000 daltons), de la protéine 4 du juvénile (MM : 210.000 daltons) et des protéines 4 et 5 de l'adulte (MM : 210.000 - 220.000 daltons). Pour les 3 stades, l'essentiel de l'activité de la glucoamylase est associée étroitement à celle de la maltase la plus lourde.

La localisation de la tréhalase et de la γ-glutamyltransférase n'a pas été possible, en raison de la dénaturation de ces deux enzymes par le SDS.

b - Comparaison de l'inactivation des enzymes par le SDS.

α/. Etude en fonction de la concentration en SDS.

La complète dénaturation de la tréhalase et de la γ-glutamyltransférase par le SDS, au cours des électrophorèses, nous a amené à étudier les effets de la concentration du détergent sur les activités enzymatiques (Planche XVIII) et à rechercher une possible modification des conditions expérimentales afin de préserver ces deux hydrolases. Des concentrations croissantes de SDS furent appliquées pendant 4 heures à des fractions aliquotes du culot P_2. Le temps d'incubation choisi correspond à la durée qui s'écoule entre le dépôt sur le gel d'électrophorèse et la fin des tests biochimiques sur les tranches du gel.

Chez les larves et les adultes, les activités de la tréhalase et de la γ-glutamyltransférase sont très fortement affectées par le SDS, même en concentration faible (0,1 %). A cette concentration, le SDS n'assure plus une solubilisation membranaire complète. L'activité de la phosphatase alcaline est également réduite spécialement chez la larve. Cependant, l'activité résiduelle est suffisante pour permettre la localisation de l'enzyme. Par contre, la maltase et la glucoamylase ne sont pas dénaturées par le détergent, quelle que soit sa concentration.

β/. Etude en fonction du temps d'incubation avec le SDS.

Des fragments de "bordures en brosse" intestinales de larves et d'adultes de Rana catesbeiana furent incubés en présence de SDS (1 % final), pendant des durées variables (Planche XIX). La tréhalase et la γ-glutamyltransférase

PLANCHE XVIII

EFFETS DE LA CONCENTRATION DU DODECYLSULFATE DE SODIUM (SDS) SUR LES ACTIVITES DES ENZYMES DES MICROVILLOSITES.

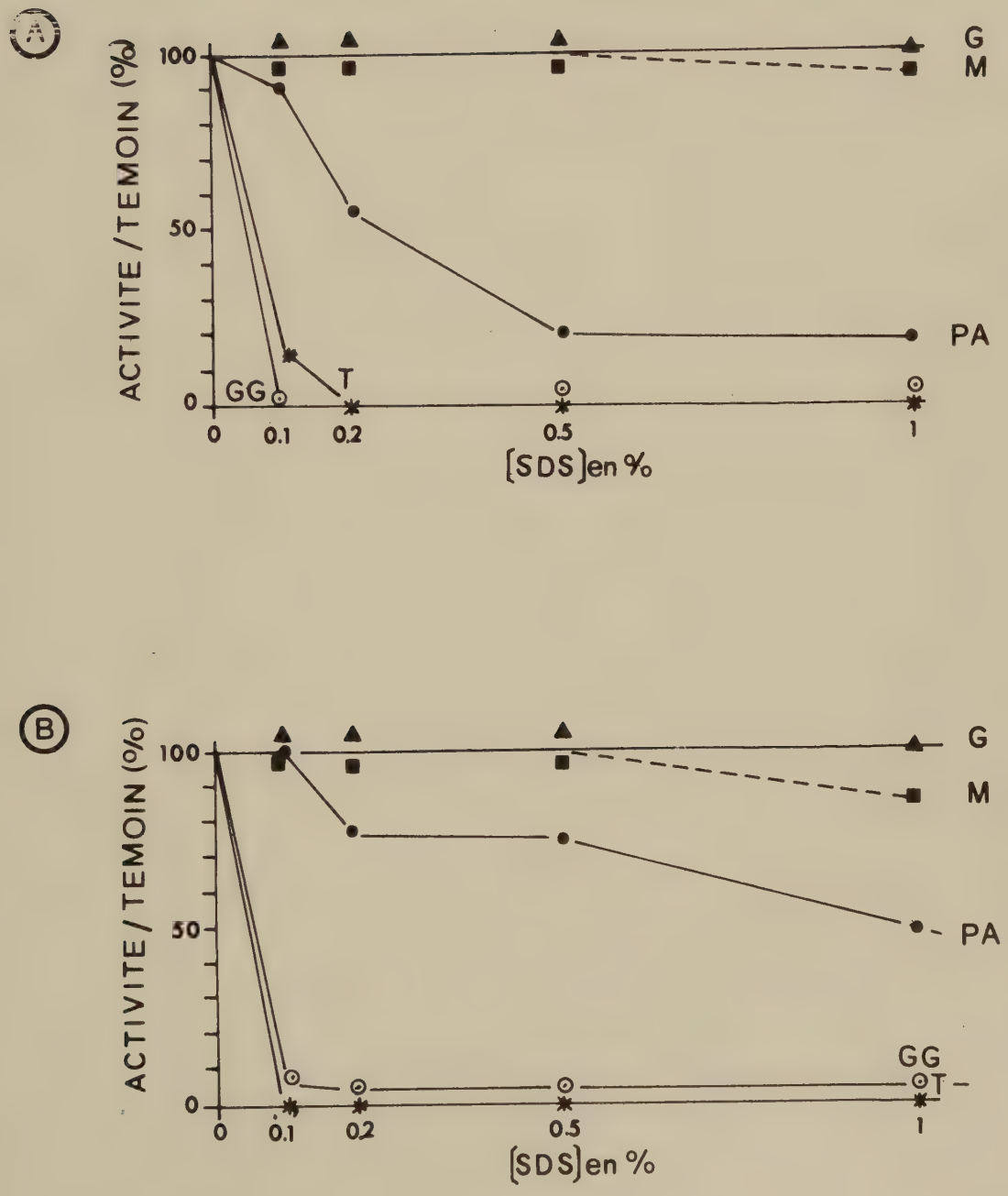
Des fractions aliquotes de préparations enrichies en fragments de "bordure en brosse", soit de larves (A) ou d'adultes (B) de Rana catesbeiana, ont été traitées pendant 4 heures par des concentrations croissantes de SDS. Les activités enzymatiques de la fraction traitée par le détergent sont comparées à celles présentes dans la même quantité de préparation témoin non soumise à l'action du SDS.

G, glucoamylase; GG, gamma-glutamyltransférase; M, maltase; PA, phosphatase alcaline; T, tréhalase.

ACTION DU SDS SUR LES ENZYMES

DE LA BORDURE EN BROSSE INTESTINALE LARVAIRE ET ADULTE

EFFETS DE LA CONCENTRATION DU SDS



sont toujours très rapidement inactivées, ce qui explique l'impossibilité de les détecter à la fin des électrophorèses. La phosphatase alcaline subit une dénaturation non négligeable, surtout chez les têtards. La maltase comme la glucoamylase résiste bien à l'action du détergent.

PLANCHE XIX

EFFETS DU TEMPS D'INCUBATION EN PRESENCE DE DODECYLSULFATE DE SODIUM (SDS) SUR LES ACTIVITES DES ENZYMES DES MICROVILLOSITES.

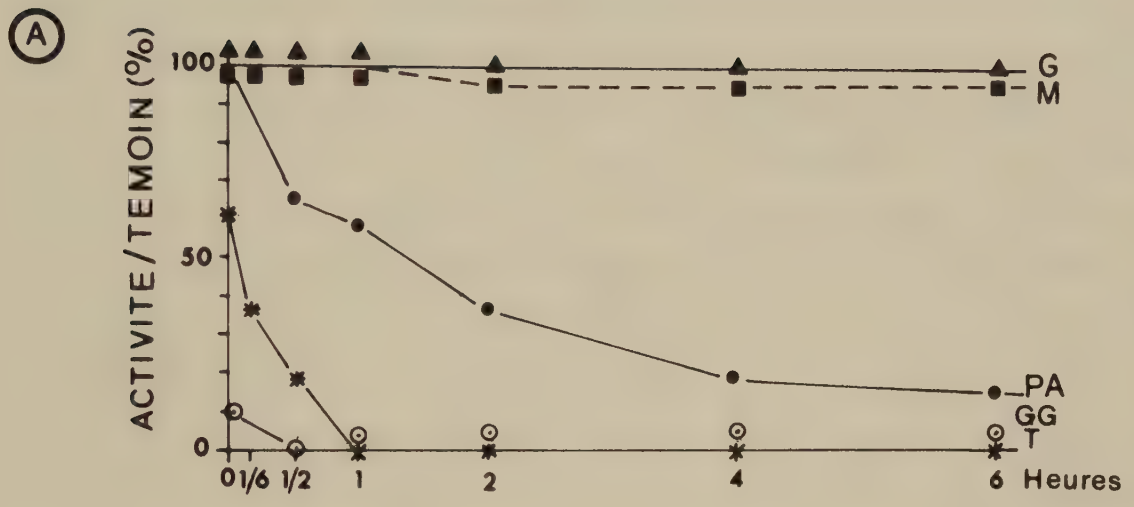
Des fragments de "bordure en brosse" intestinale larvaire (A) et adulte (B) de Rana catesbeiana sont incubés en présence de SDS à la concentration finale de 1 %. Des aliquotes sont prélevées à différents intervalles de temps. Les activités enzymatiques sont déterminées et comparées à celles obtenues à partir de préparations non traitées par le SDS.

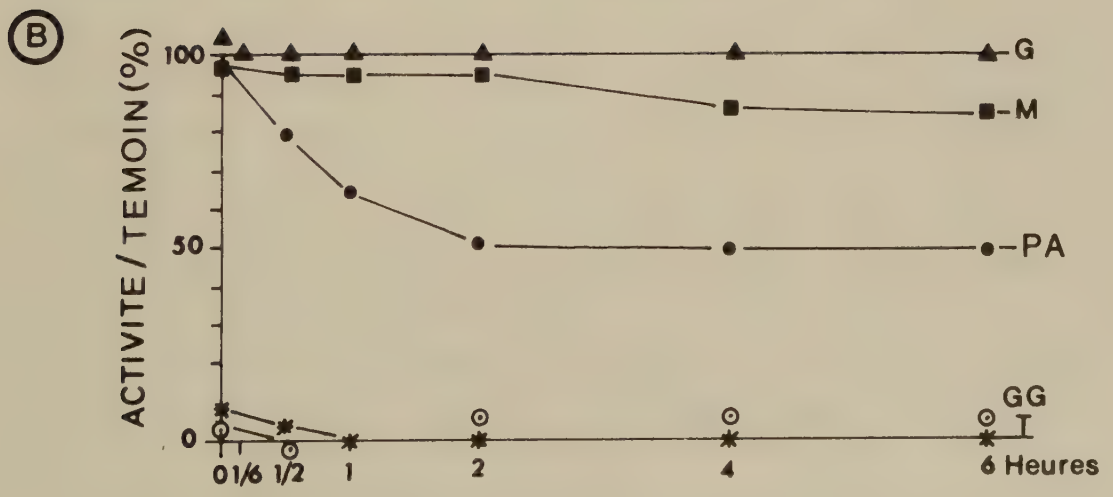
G, glucoamylase; GG, gamma-glutamyltransférase; M, maltase; PA, phosphatase alcaline; T, tréhalase.

ACTION DU SDS SUR LES ENZYMES

DE LA BORDURE EN BROSSE INTESTINALE LARVAIRE ET ADULTE

EFFETS DU TEMPS D'INCUBATION





DISCUSSION

DIFFERENCIATION DE LA BORDURE EN BROSSE INTESTINALE.

Chez les Amphibiens Anoures en métamorphose spontanée, l'apparition d'ébauches de microvillosités à l'apex des épithéliocytes intestinaux secondaires est la première manifestation de leur différenciation en cellules absorbantes. De petites microvillosités naissent alors que ces cellules sont encore situées à l'intérieur des "nids" de prolifération (Bonneville et Weinstock, 1970). Le développement des microvillosités s'accélère dès que les épithéliocytes secondaires ne sont plus recouverts par l'épithélium larvaire en dégénérescence, et affleurent à la surface de la paroi. L'édification de la "bordure en brosse" intestinale des Amphibiens juvéniles repose sur la coopération fonctionnelle de vésicules golgiennes et de filaments réunis en paquets sous la cytomembrane apicale. La contribution de l'une ou l'autre structure, ou des deux, a également été préconisée pour la genèse des microvillosités intestinales des Insectes (Van der Starre-Van der Molen et De Priester, 1972; Andries, 1972), des Oiseaux (Overton et Shoup, 1964; Overton, 1965; Chambers et Grey, 1979) et des Mammifères (Bennett, 1970; Bennett et Leblond, 1971; Moxey et Trier, 1979). D'une façon générale, les filaments s'insèrent sur la membrane plasmique apicale, à l'emplacement des futures microvillosités. Par leur élongation progressive, les filaments jouent un rôle morphogénétique dans l'édification des microvillosités, dont ils deviendront le squelette interne. La croissance des microvillosités nécessite d'autre part un apport membranaire. Ce dernier est réalisé par la fusion de vésicules golgiennes avec la membrane plasmique apicale. Une genèse des microvillosités tout à fait analogue est obtenue dans les épithéliocytes intestinaux secondaires, au cours de la métamorphose induite par les hormones thyroïdiennes. Chez les larves d'Anoures, la thyroxine exogène provoque la dégénérescence de l'épithélium intestinal larvaire et la prolifération des épithéliocytes secondaires mais, à partir du 10ème jour de traitement hormonal, elle déclenche également la différenciation structurale de ces cellules en épithéliocytes absorbants, munis d'une "bordure en brosse" tout à fait caractéristique (Dauça et coll., 1980a [9]).

La "bordure en brosse" intestinale néoformée ne devient véritablement fonctionnelle qu'après acquisition des hydrolases digestives. Glycoprotéine véhiculée par les vésicules golgiennes, la phosphatase alcaline s'insère dans la membrane des microvillosités et y manifeste très rapidement une

activité élevée (Chieffi et Carfagna, 1960; Brown et Millington, 1968; Kaltenbach et coll., 1977; Hourdry et Hugon, 1979). Cette forte activité enzymatique peut être interprétée comme le signal de la différenciation et de la maturation fonctionnelles des épithéliocytes intestinaux secondaires, après la crise histogénétique du climax de la métamorphose. Elle précède d'autre part le changement du régime alimentaire. Une telle élévation de l'activité phosphatasique alcaline se rencontre dans l'intestin d'autres animaux en rupture trophique, dont l'alevin de truite après résorption du vitellus (Prakash, 1961), l'embryon d'Anoure chez lequel s'établit un régime herbivore (Berg, 1955), le poulet à l'éclosion (Moog, 1950) et divers Mammifères (souris, rat, cobaye,...) au moment de leur naissance ou de leur sevrage (Moog, 1951; Cohen, 1957; Halliday, 1959; Moog et Ortiz, 1960; Moog et Yeh, 1973). Dans l'intestin remanié des juvéniles, l'activité de la phosphatase alcaline s'élève en même temps que celle des autres hydrolases digestives : maltase, glucoamylase, tréhalase et γ-glutamyltransférase (Hourdry et coll., 1979).

CONTROLE ENDOCRINE DE LA MATURATION ENZYMATIQUE INTESTINALE.

Un contrôle des enzymes de la "bordure en brosse" intestinale par les hormones thyroïdiennes semble possible, puisque les fortes activités enzymatiques constatées dans la région antérieure du nouvel épithélium succèdent à l'installation de hauts niveaux endogènes de la T_3 et de la T_4. Ces hormones stimuleraient non seulement la prolifération des épithéliocytes secondaires, mais elles induiraient également l'apparition d'enzymes dans les cavités golgiennes de ces cellules. Les vésicules golgiennes libèreraient alors leur contenu sur les microvillosités après avoir fusionné avec elles. Il est indéniable que les hormones thyroïdiennes, et notamment la thyroxine, occupent une place primordiale dans la régulation de l'activité de la phosphatase alcaline au cours de la métamorphose. Le traitement des larves d'Anoures par la thyroxine provoque dès le 3ème jour une activation de la phosphatase alcaline de l'épithélium intestinal larvaire, dont il déclenche par ailleurs la dégénérescence. Chez les larves de Rana pipiens (Kaltenbach et coll., 1977) ou de Rana catesbeiana (Dauça et coll., 1980a [9]) traitées par la thyroxine pendant 10 jours, une augmentation de l'activité spécifique de cette enzyme est par ailleurs constatée dans l'épithélium secondaire néoformé. Un même effet activateur est vraisemblable pour la γ-glutamyltransférase, dont l'activité augmente au cours du traitement et passe par un maximum au moment où les processus histolytiques et histogénétiques sont à leur paroxysme.

Par contre, la thyroxine seule est incapable de régénérer dans l'épithélium intestinal secondaire les hautes activités glucidasiques constatées lors de la métamorphose spontanée. A la différence de la métamorphose naturelle, marquée pour les glucidases digestives par une élévation systématique de leurs activités spécifiques (Hourdry et coll., 1979), la métamorphose induite artificiellement par la seule thyroxine conduit à une baisse générale des activités de ces mêmes enzymes. Une telle contradiction peut être levée si l'on admet que la métamorphose expérimentale est accompagnée d'une augmentation de la concentration des seules hormones thyroïdiennes plasmatiques, tandis que la métamorphose naturelle suppose des modifications endocriniennes beaucoup plus amples, ne touchant pas seulement les hormones thyroïdiennes. En d'autres termes, si les hormones thyroïdiennes sont capables de déclencher les remaniements intestinaux et de permettre la différenciation ultrastructurale des épithéliocytes secondaires, elles ne semblent pas suffisantes pour assurer la synthèse de l'ensemble des enzymes de la "bordure en brosse".

Certaines observations inclinent à penser que les hormones du tissu interrénal pourraient intervenir. En effet, l'étude histologique et histochimique montre que ce tissu ne se développe (Stenger et Charipper, 1946; revue de Dodd et Dodd, 1976) et ne devient fonctionnel (Dale, 1962; Rapola, 1963) qu'au climax de la métamorphose. Ceci est confirmé par les dosages radioimmunologiques réalisés par Jaffe (1981), indiquant que la concentration plasmatique de la corticostérone des larves de Rana catesbeiana augmente au début de la métamorphose et culmine au climax. Selon cet auteur, le traitement des larves d'Anoures par la T_3 n'entraîne qu'un très faible enrichissement du plasma en corticostérone. Il est probable que le tissu interrénal n'est pas davantage stimulé et que la concentration plasmatique des glucocorticoïdes reste faible, lors du traitement des larves d'Anoures par la thyroxine. Or, au climax, les glucocorticoïdes jouent non seulement un rôle prédominant dans la régulation du métabolisme des glucides (Hanke et Leist, 1971), mais ils interviendraient de façon synergique avec les hormones thyroïdiennes dans le déclenchement de la métamorphose (Frieden et Naile, 1955; Kobayashi, 1958; Kaltenbach, 1958). Il est connu par ailleurs que chez les larves d'Amphibiens, l'addition in vivo ou in vitro d'extraits surrénaliens empêche la chute de l'activité phosphatasique alcaline observée au climax (Chieffi et Carfagna, 1959 a, b, 1960). De même, les glucocorticoïdes intensifient l'activité de cette enzyme dans l'intestin des têtards (Verne et Hébert, 1949; Chieffi et Carfagna, 1960).

Chez les Amphibiens, la connaissance concernant l'action des glucocorticoïdes et des autres stéroïdes sur le développement intestinal reste encore fragmentaire. Chez d'autres Vertébrés, par contre, il a été nettement établi que la maturation fonctionnelle de l'intestin est sous la dépendance de ces hormones. L'intestin de la Lamproie subit un profond remodelage à l'époque où l'animal quitte le milieu marin et passe en rivière pour pondre. Ces évènements sont sous le contrôle de l'axe hypophyse-gonades (Larsen, 1973, 1974; Pickering, 1976). Chez ces animaux le tissu interrénal ne semble pas intervenir, les corticostéroïdes n'étant pas détectés dans le plasma des Lamproies en migration (Weisbart et Idler, 1970; Buus et Larsen, 1975; Weisbart, 1975). Chez les Salmonidés, il a été suggéré que les transformations du tractus digestif, qui surviennent au moment des migrations sont concomitantes d'augmentations du taux des corticostéroïdes plasmatiques (Hane et Robertson, 1959; Robertson et Wexler, 1960). Chez ces Poissons, les stéroïdes gonadiques peuvent aussi stimuler le tissu interrénal (Van Overbeeke et McBride, 1971). Chez le Poussin, les glucocorticoïdes sont responsables de la maturation enzymatique de l'intestin (Moog et Richardson, 1955), la thyroxine ne jouant qu'un rôle "facilitateur" (Moog, 1961). Chez les Mammifères, les changements enzymatiques qui surviennent dans l'intestin lors du sevrage sont sous le contrôle à la fois des glucocorticoïdes et de la thyroxine (Moog, 1962, 1971; Koldovsky, 1972; Henning et Kretchmer, 1973; Koldovsky et coll., 1975). L'ablation des glandes surrénales ou de la thyroïde supprime l'apparition normale des enzymes de la "bordure en brosse", tandis que l'administration in vivo et in vitro de glucocortidoïdes ou de thyroxine la restaure (Doell et Kretchmer, 1964; Moog et coll., 1973; Forstner et Galand, 1976; Yeh et Moog, 1977; Henning et Sims, 1979; Malo et Ménard, 1979a, b; 1980; Kedinger et coll., 1980; Ménard et coll., 1981).

CARACTERES DES ENZYMES PORTEES PAR LA BORDURE EN BROSSE DE L'EPITHELIUM INTESTINAL SECONDAIRE.

L'intestin des Anoures constitue un exemple particulièrement intéressant de transformations du tractus digestif, en prélude au changement de régime alimentaire se produisant à la métamorphose. Chez les juvéniles, ce changement éthologique n'est précédé d'aucune disparition des activités enzymatiques, mais il est au contraire marqué par leur élévation. D'autre part, la γ-glutamyltransférase intestinale présente chez la grenouille adulte une activité spécifique quatre fois plus élevée que chez la larve.

Compte-tenu de la participation de cette enzyme dans l'hydrolyse de plusieurs peptides et éventuellement de sa contribution au mécanisme d'absorption de certains acides aminés, l'augmentation constatée est parfaitement compatible avec le passage au régime carnivore et insectivore survenant en fin de métamorphose. Les variations quantitatives présentées par les activités spécifiques des hydrolases digestives sont importantes au cours du développement naturel des Anoures, mais les modifications qualitatives affectant les protéines et les enzymes portées par la membrane des microvillosités ne le sont pas moins. La fraction des enzymes en solution dans le hyaloplasme des épithéliocytes intestinaux diminue au cours du développement post-embryonnaire des larves d'Anoures, tandis que s'élève la fraction des enzymes insérées dans la membrane des microvillosités. Pour la γ-glutamyltransférase, la glucoamylase, la maltase et la tréhalase, les rendements obtenus avec les culots P_2 sont deux fois plus élevés chez les adultes que chez les larves. L'observation ultrastructurale des fragments de "bordure en brosse", après coloration négative, confirme ce résultat. La fréquence des particules élémentaires correspondant aux sites enzymatiques est en effet plus grande à la surface externe des vésicules issues des microvillosités de l'adulte. Par ailleurs, le nombre des protéines composant la "bordure en brosse" de l'intestin des Anoures augmente au cours de l'ontogenèse. Cette augmentation porte à la fois sur les glycoprotéines de fortes masses moléculaires et sur les protéines plus légères. Une partie de ces dernières représente vraisemblablement les constituants du squelette des microvillosités. Il a été en effet montré que l'intérieur des microvillosités est formé d'actine (Tilney et Mooseker, 1971) et d'autres petites protéines (Weiser, 1973), contaminants possibles des membranes des microvillosités dans les électrophorèses. L'enrichissement protéique va de pair avec la mise en place d'un nouvel épithélium intestinal villeux qui diffère de l'épithélium non plissé de la larve. Il s'accompagne à l'échelle macromoléculaire d'une maturation des enzymes portées par les microvillosités. La maltase, la glucoamylase et la phosphatase alcaline présentent des mobilités électrophorétiques relatives toujours plus faibles chez les juvéniles et les adultes que chez les larves. S'appuyant sur des données cytochimiques, Kaltenbach et coll. (1977) ont constaté chez Rana pipiens que les phosphatases alcalines intestinales de la larve et de l'adulte différaient par leurs affinités pour divers substrats. Il est probable que la phosphatase alcaline de Rana catesbeiana présente plusieurs isoenzymes pendant la vie post-embryonnaire, comme cela a déjà été mis en évidence chez les embryons de Xénope (Maekawa et Yamana, 1975).

La phosphatase alcaline intestinale subit ainsi une évolution au cours du développement des Amphibiens.

De telles modifications existent également chez les Mammifères (Moog et Yeh, 1973; Raul et coll., 1977; Simon et coll., 1979; Benham et Harris, 1979). Chez le Rat par exemple, la mobilité électrophorétique relative de la phosphatase alcaline intestinale purifiée est plus importante chez le foetus que chez l'adulte (Uezato et coll., 1981). La disparition dans l'intestin des Mammifères de la phosphatase alcaline de type foetal et son remplacement par une forme adulte se produit lors de la naissance. Pour les Amphibiens Anoures comme pour les Mammifères, la transition est brutale. Elle peut être l'expression de gènes structuraux différents ou résulter simplement de modifications dans la post-transcription. Par ailleurs, chez l'Amphibien adulte, le nombre des bandes protéiques obtenues à partir des membranes des microvillosités intestinales avoisine ceux que l'on détermine chez le Chien (Starita-Geribaldi et coll., 1977) ou l'homme (Maestracci et coll., 1973). Il est sensiblement supérieur aux nombres trouvés chez le Poulet (Tilney et Mooseker, 1971), la Souris (Fujita et coll., 1973; Billington et Nayudu, 1975), le Rat (Alpers, 1972; Kim et Perdomo, 1974; Seetharam et coll., 1977), le Hamster (Critchley et coll., 1975) et le Cobaye (Green et Hadorn, 1977). Ces différences tiennent soit à l'espèce considérée, soit à des conditions d'électrophorèse plus ou moins résolutives.

La maltase et la glucoamylase sont deux glucidases qui restent systématiquement associées sous forme de complexes tout au long du développement naturel des larves d'Anoures. De tels complexes maltase/glucoamylase ont été également signalés dans l'intestin humain (Maestracci et coll., 1975), de Hamster (Critchley et coll., 1975), de Cobaye (Green et Hadorn, 1977), et de Rat (Flanagan et Forstner, 1979). La résistance des complexes maltase/glucoamylase de l'intestin des Amphibiens larvaires ou adultes à l'action dénaturante du SDS est identique et tout à fait remarquable.

Par contre, chez Rana catesbeiana, le comportement de la phosphatase alcaline intestinale en présence de SDS diffère sensiblement, selon qu'elle appartient aux têtards ou aux adultes. La phosphatase alcaline larvaire est beaucoup plus sensible au détergent que l'enzyme adulte.

Les hydrolases digestives des Amphibiens et celles des Mammifères diffèrent de façon flagrante dans leur sensibilité pour le SDS. Quoique fortement diminuées par le détergent, les activités de la tréhalase et de la γ-glutamyltransférase des Mammifères sont suffisantes pour que l'on puisse les

localiser après électrophorèse (Critchley et coll., 1970; Maestracci et coll., 1975), alors qu'elles sont dénaturées chez les Amphibiens. A la différence de la phosphatase alcaline intestinale des Anoures, celle des Mammifères est très peu affectée par le détergent, alors que la situation est inversée pour la glucoamylase et la maltase.

De telles différences dans les mobilités électrophorétiques et dans la sensibilité pour le SDS supposent une modification de la structure des hydrolases digestives lorsque l'on compare Anoures et Mammifères. D'autre part, la substitution de l'épithélium intestinal qui marque le développement post-embryonnaire des Amphibiens Anoures s'accompagne de remaniements moléculaires au niveau des enzymes digestives de la "bordure en brosse". Ces modifications biochimiques sont le prélude indispensable au changement de régime alimentaire qui survient à l'issue de la métamorphose.

CONCLUSION

De microphage ou d'herbivore avant le climax, l'Amphibien Anoure devient carnivore en post-métamorphose. Ce changement de comportement alimentaire coïncide avec la substitution de l'épithélium intestinal et s'explique en partie par les caractères morphologiques, histologiques et biochimiques du nouvel épithélium.

Le nombre élevé des cellules issues de la prolifération des cellules souches intestinales entraîne au climax une pluristratification transitoire. Cette disposition disparaît en fin de métamorphose au moment où la nouvelle assise se plisse et devient un épithélium secondaire unistratifié. Du plissement du tissu naissent des villosités dont l'espace axial est envahi par le chorion au fur et à mesure qu'elles s'allongent. De tels replis qui n'existent pas dans l'intestin larvaire constituent d'un point de vue physiologique une augmentation importante de la surface d'échange. Par ailleurs, au cours de ces remaniements histologiques, les diverses zones extraépithéliales de l'intestin, particulièrement la musculeuse, s'épaississent. Les mouvements péristaltiques deviennent alors plus amples et favorisent la propulsion d'aliments solides.

La différenciation structurale des épithéliocytes secondaires absorbants passe par la genèse de microvillosités apicales et la formation d'une "bordure en brosse" caractéristique.

La maturation fonctionnelle de cette nouvelle "bordure en brosse" intestinale est acquise précocement, dès la fin de la métamorphose. L'intestin des individus juvéniles, nouvellement métamorphosés, présente déjà les mêmes hydrolases digestives que celui de l'adulte, avec même des activités supérieures. Une telle situation est à rapprocher de celle constatée dans l'intestin d'Oiseaux où la maturation enzymatique de la"bordure en brosse" est obtenue dès l'éclosion. Elle diffère sensiblement de ce qui se produit chez les Mammifères. L'intestin grêle du Rat par exemple, n'est pas biochimiquement mature à la naissance. Les propriétés de digestion et d'absorption propres à l'intestin adulte ne sont définitivement acquises qu'après 4 semaines de vie post-natale.

Plusieurs caractères biochimiques distinguent les épithéliocytes secondaires absorbants des Amphibiens juvéniles ou adultes, des épithéliocytes primaires de l'intestin des larves.

Nous avons montré que le développement intestinal post-embryonnaire se traduit par l'enrichissement de la "bordure en brosse" en hydrolases digestives. La densité enzymatique de cette membrane est plus élevée après métamorphose. L'activité spécifique de la γ-glutamyltransférase qui y est insérée augmente de quatre fois au cours du passage du stade larvaire au stade adulte. Dans la mesure où cette enzyme est impliquée non seulement dans l'hydrolyse de plusieurs peptides mais également dans les mécanismes d'absorption de certains acides aminés, une telle augmentation pourrait être compatible avec le passage au régime carnivore.

La phosphatase alcaline intestinale montre une mobilité électrophorétique et une sensibilité à l'égard du SDS plus grandes avant métamorphose qu'après. Ceci n'est pas sans rappeler le remplacement de la phosphatase alcaline foetale par une forme adulte dans l'intestin des Mammifères lors de leur naissance.

La tréhalase et la γ-glutamyltransférase de l'intestin des Anoures présentent une sensibilité tout à fait exceptionnelle au SDS. Chez les Mammifères, les mêmes enzymes résistent beaucoup mieux au détergent dans des conditions expérimentales identiques.

Le traitement des larves d'Anoures par la thyroxine déclenche dans l'intestin non seulement la prolifération des cellules souches mais la différenciation de leurs cellules-filles en épithéliocytes secondaires. Cependant si la thyroxine engendre la différenciation structurale des épithéliocytes absorbants elle ne conduit qu'à une maturation enzymatique partielle de leur bordure en brosse. Seules les activités de la phosphatase alcaline et de la γ-glutamyltransférase sont régénérées dans l'épithélium secondaire néoformé. Celles des glucidases ne le sont pas.

Nous avons suggéré que la maturation enzymatique de la "bordure en brosse" de l'épithélium intestinal secondaire est conditionnée par d'autres facteurs que les hormones thyroïdiennes. Il est probable que chez les Amphibiens comme chez les Oiseaux et les Mammifères, les hormones thyroïdiennes et glucocorticoïdes contrôlent de façon synergique les activités enzymatiques intestinales.

II - MICROPEROXYSOMES, PEROXYSOMES ET CATALASE.

Définis de façon précise par leur morphologie, leurs propriétés physiques et leur contenu enzymatique (De Duve et Baudhuin, 1966; Hruban et Recheigl, 1969; Masters et Holmes, 1977; Böck et coll., 1980), les peroxysomes sont des organites cytoplasmiques largement distribués dans les règnes végétal (Beevers, 1969; Tolbert, 1971; Vigil, 1973) et animal (Muller et coll., 1968; Hruban et Recheigl, 1969).

Chez les Mammifères, de nombreuses recherches cytologiques, cytochimiques et biochimiques leur ont été consacrées. Leur participation active dans le métabolisme des glucides et des lipides et dans le catabolisme des purines a été soulignée (Masters et Holmes, 1979; Böck et coll., 1980). De même, au cours du développement, les rapports qui existent entre l'ontogenèse des peroxysomes et la différenciation des tissus ont été envisagés (Holmes et Masters, 1978).

La situation est loin d'être aussi claire chez les Amphibiens. La présence de peroxysomes a été confirmée dans les hépatocytes et dans les cellules rénales des tubules proximaux de la plupart des Urodèles et des Anoures (Hruban et Recheigl, 1969; Scott et coll., 1969; Roels et coll., 1970). Les peroxysomes hépatiques et rénaux ont aussi été isolés par centrifugation différentielle en gradient de saccharose, et leur contenu enzymatique a été déterminé (Visentin et Allen, 1969; Scott et coll., 1969). Des organites plus petits appelés microperoxysomes, dépourvus de nucléoïde mais renfermant au moins une oxydase et de la catalase, ont été décrits dans la thyroïde et le pancréas de Pleurodeles waltlii (Picheral, 1972), dans le pancréas de Salamandra salamandra et de Rana esculenta (Trandaburu, 1980), dans le tissu interrénal de Salamandra salamandra et de Triturus cristatus (Berchtold, 1975 a, b), et dans la vessie de Bufo marinus (Jones et coll., 1981).

Si la présence de microperoxysomes dans les entérocytes des Téléostéens (Connock, 1973; Temple et coll., 1979) et des Mammifères (Connock et Pover, 1970, 1974; Peters, 1970, 1976; Novikoff et Novikoff, 1972) est largement signalée, leur existence n'a pas encore été recherchée dans les épithéliocytes intestinaux des Amphibiens. La catalase représente classiquement un marqueur des peroxysomes et des microperoxysomes (Thomson et Klipfel, 1957; De Duve et Baudhuin, 1966; Hicks et Fahimi, 1977). Nous avons donc essayé de révéler l'existence de ces organites dans l'épithélium intestinal des Anoures par visualisation cytochimique de leur activité catalasique, à l'aide

du 3,3'-diaminobenzidine, en appliquant les techniques de Novikoff et Goldfisher (1969) et Novikoff et coll. (1972). D'autre part, nous avons cherché à savoir si les remaniements affectant ce tissu au cours du développement naturel des larves d'Anoures ont une incidence sur la fréquence, la morphologie et l'activité catalasique de leurs structures DAB-positives L'analyse cytochimique et biochimique a été réalisée à partir de larves, de juvéniles et d'adultes de Rana catesbeiana et d'Alytes obstetricans (espèces respectivement américaine et européenne dont la métamorphose s'accompagne d'un changement d'habitat) et de Xenopus laevis (espèce originaire d'Afrique du Sud pouvant demeurer perpétuellement aquatique).

L'incidence du traitement des larves de Rana catesbeiana par la thyroxine, sur l'activité de la catalase intestinale, a également été examinée.

Des investigations identiques ont été entreprises dans le foie, le pancréas et le rein. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux qui s'appliquent à l'épithélium intestinal.

A. Ontogenèses des microperoxysomes intestinaux.

D'un point de vue purement morphologique, les structures DAB-positives observées dans l'épithélium intestinal des Anoures correspondent à des microperoxysomes plutôt qu'à de volumineux peroxysomes. Quels que soient le stade et l'espèce considérés, ces organites sont toujours de petite taille et dépourvus de nucléoïde. Lors du développement post-embryonnaire naturel, l'évolution de la fréquence des microperoxysomes intestinaux diffère sensiblement, selon qu'il s'agit de Rana catesbeiana et d'Alytes obstetricans ou de Xenopus laevis.

1. Développement post-embryonnaire de Rana catesbeiana et d'Alytes obstetricans.

Les structures DAB-positives observées dans l'épithélium intestinal des larves de Rana catesbeiana et d'Alytes obstetricans évoluent de façon identique au cours du développement post-embryonnaire, marqué pour ces animaux par un changement d'habitat et de régime alimentaire (Dauça et coll., 1982 [13]). En prémétamorphose (Planche XX a, b), les microperoxysomes sont présents en petit nombre dans les épithéliocytes intestinaux primaires. Leur diamètre moyen est respectivement de 0,36 micron et de 0,26 micron chez les larves de Rana catesbeiana et d'Alytes obstetricans. Durant cette période, les cellules souches dispersées à la base de l'épithélium intestinal, ne contiennent pas de microperoxysomes.

PLANCHE XX

ONTOGENESE DES MICROPEROXYSOMES INTESTINAUX.

La présence des microperoxysomes a été recherchée dans l'épithélium intestinal des larves d'Anoures au cours du développement post-embryonnaire naturel. Ces organites ont été visualisés cytochimiquement grâce à leur activité catalasique.

Figures a et b. Larves en prémétamorphose (stades X-XI, T.K.). Les microperoxysomes sont rares dans les épithéliocytes intestinaux primaires (E_1).

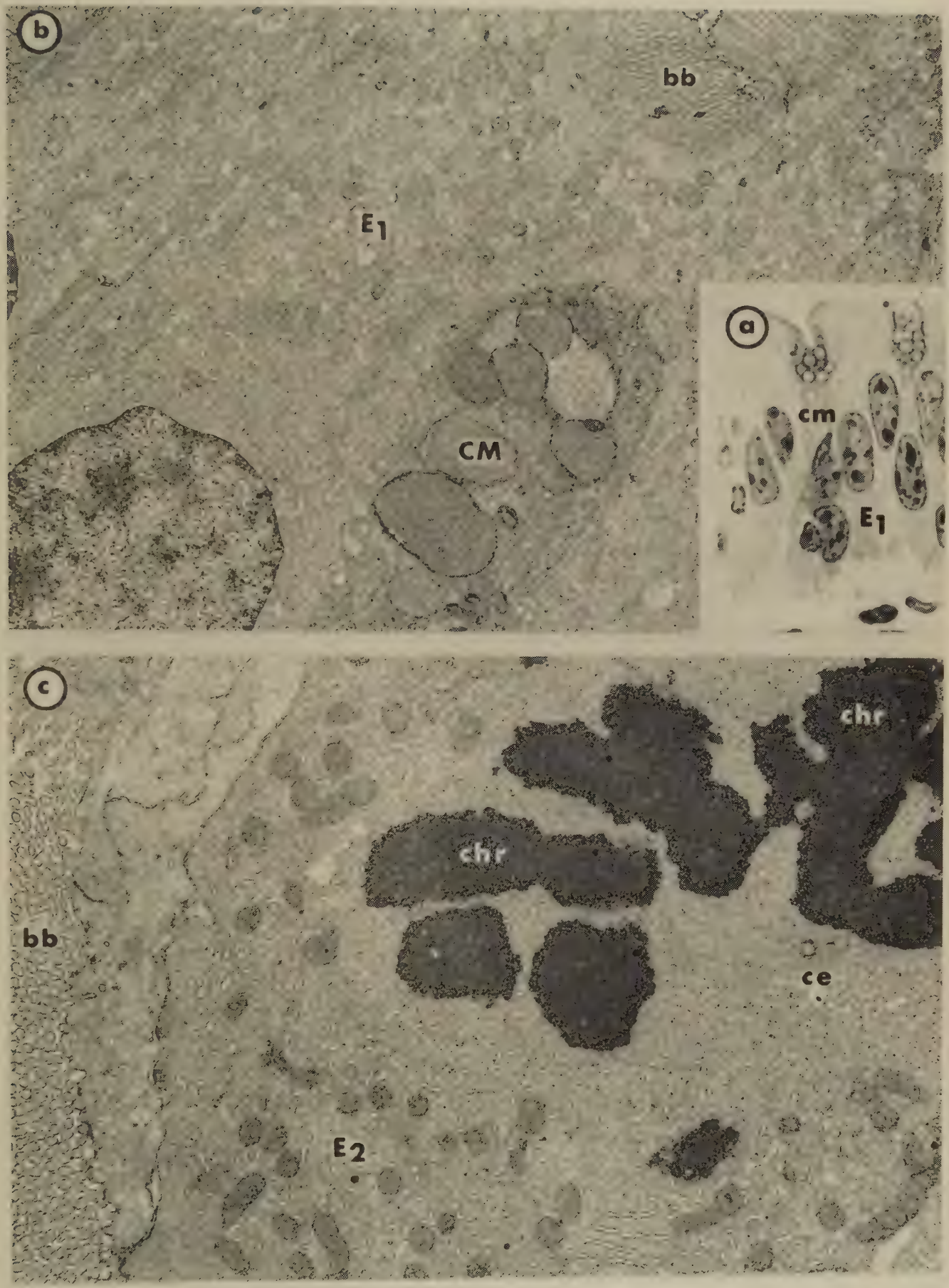
fig. a. Rana catesbeiana. Coupe semi-fine. Glut. OsO_4.cacodylate de sodium. x 1.100.

fig. b. Alytes obstetricans. Coupe fine. Glut. OsO_4.phosphate. x 9.000.

Figure c. Les microperoxysomes sont également rares dans les épithéliocytes intestinaux secondaires qui se substituent aux épithéliocytes primaires (E_1), lors de la métamorphose. Au cours de ces évènements, des figures de mitose sont fréquemment aperçues dans l'épithélium secondaire.

fig. c. Rana catesbeiana (stades XXIV-XXV). Glut. OsO_4.cacodylate de de sodium. x 13.300.

Abréviations :
bb, "bordure en brosse"; ce, centriole; chr, chromosome; cm et CM, cellule muqueuse caliciforme.


b
bb
E1
CM
a
cm
E1
c
chr
chr
bb
ce
E2

Au paroxysme de la métamorphose, les microperoxysomes sont encore rares dans les épithéliocytes secondaires qui prolifèrent (Planche XX, c). Leur présence ne devient évidente qu'en fin de climax, dès qu'une nouvelle "bordure en brosse" intestinale s'est différenciée et que la fréquence des citernae réticulaires et des mitochondries est plus importante. Les premières structures faiblement DAB-positives apparaissent par bourgeonnement du réticulum endoplasmique lisse, dans les régions basales des nouveaux épithéliocytes.

Chez la jeune grenouille sortie de l'eau depuis plusieurs semaines et adaptée à son nouvel habitat terrestre, le nombre des microperoxysomes augmente de manière spectaculaire dans les entérocytes secondaires qui achèvent leur différenciation (Planche XXI, a). L'augmentation paraît plus importante chez les Alytes juvéniles. Cependant, l'âge des animaux peut expliquer une telle différence, dans la mesure où les juvéniles de Rana catesbeiana n'étaient sortis de l'eau que depuis deux semaines, alors que les Alytes métamorphosés l'étaient depuis deux mois. Les organites désormais DAB-positifs sont en grande majorité situés dans la région supra-nucléaire des épithéliocytes secondaires à proximité de nombreuses mitochondries. De forme circulaire, les microperoxysomes ont un diamètre moyen de 0,30 micron chez Rana catesbeiana et de 0,38 micron chez Alytes obstetricans

La fréquence des microperoxysomes demeure élevée dans les épithéliocytes secondaires différenciés, sans toutefois s'accroître de manière significative chez l'adulte (Planche XXI, b, c, d). Ces organites localisés préférentiellement à proximité des noyaux ou des dictyosomes sont le plus souvent circulaires ou ovoïdes, et ils présentent un diamètre moyen de 0,41 micron chez Rana catesbeiana et 0,36 micron chez Alytes obstetricans. Quelques microperoxysomes sont cependant allongés et peuvent montrer une communication avec le réticulum endoplasmique lisse.

Ainsi, chez Rana catesbeiana et Alytes obstetricans, le développement est caractérisé par un accroissement de la taille des microperoxysomes intestinaux et une augmentation spectaculaire de leur fréquence en fin de métamorphose, au moment du passage au milieu terrestre.

2. Développement post-embryonnaire de Xenopus laevis.

Chez Xenopus laevis, les individus juvéniles ne changent pas obligatoirement d'habitat et peuvent demeurer en milieu aquatique, contrairement à ce qui se produit chez Rana catesbeiana et Alytes obstetricans. L'épithélium

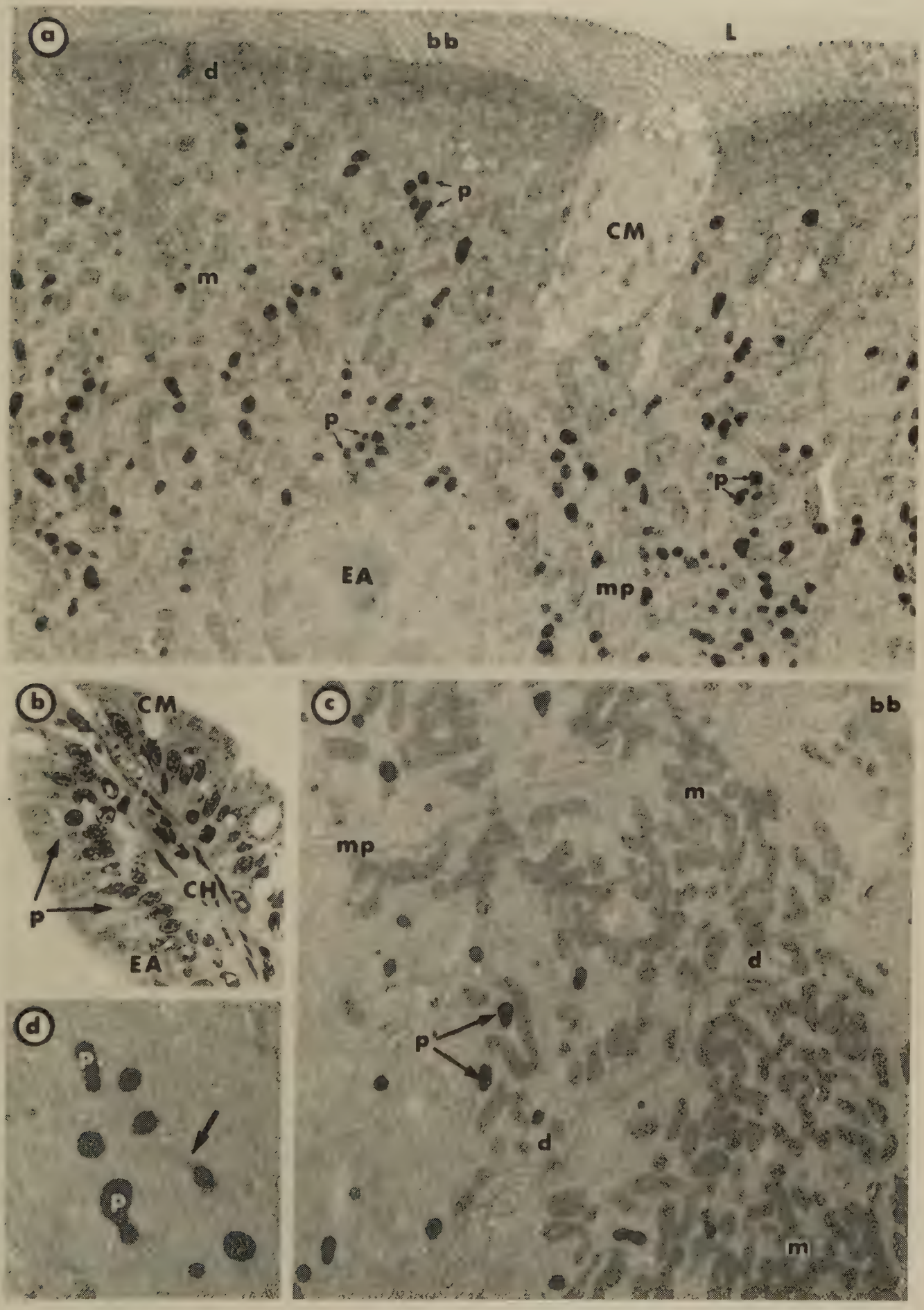
PLANCHE XXI

ONTOGENESE DES MICROPEROXYSOMES INTESTINAUX. (Suite).

fig. a. Intestin d'Alytes obstetricans juvénile.
Chez les individus nouvellement métamorphosés, une activité catalasique est visualisée dans les nombreux microperoxysomes supra-nucléaires des épithéliocytes intestinaux secondaires différenciés. Glut. OsO_4.phosphate. 5.500.

fig. b, c et d. Intestin de Rana catesbeiana adulte.
Les microperoxysomes catalase-positifs sont nombreux dans la zone supra-nucléaire des épithéliocytes intestinaux secondaires. Certains de ces organites sont en continuité avec des cavités ergastoplasmiques (flèche). Glut. OsO_4.cacodylate de sodium. fig. b : coupe semi-fine, x 600; fig. c : x 12.000; fig. d : x 16.500.

Abréviations :
bb, "bordure en brosse"; CH, chorion; CM, cellule muqueuse caliciforme; d, desmosome; EA, épithéliocyte intestinal absorbant; L, lumière intestinale; m, mitochondrie; mp, membrane plasmique; p, microperoxysome.


a
bb
L
d
p
CM
m
p
p
p
EA
mp
b
CM
CH
p
EA
c
bb
m
mp
d
p
d
m
d

intestinal des larves de Xénope est remplacé au cours de la métamorphose, comme il l'est chez les autres Anoures. Toutefois, la mise en place de l'épithélium intestinal secondaire villeux ne s'accompagne pas d'une augmentation de la fréquence des microperoxysomes, à la différence de ce que l'on constate chez Rana catesbeiana et Alytes obstetricans.

B. Variations de l'activité catalasique intestinale.

La muqueuse intestinale récupérée par grattage de l'intestin est homogénéisée à froid, en présence de tampon phosphate M/15, à pH 7,0. L'homogénat est traité pendant 15 minutes par le triton X.100, à la concentration finale de 1 %, selon la technique de Cohen et coll. (1970). Après une centrifugation de 10 minutes à 5.000 tours par minute, l'activité catalasique du surnageant est déterminée selon le procédé spectrophotométrique de Lück (1963).

1. Evolution au cours du développement spontané.

a - Mise en évidence d'un gradient antéro-postérieur de l'activité catalasique intestinale.

Les dosages ont été effectués chez Rana catesbeiana. Dans cette espèce, l'intestin est suffisamment long pour que l'on puisse obtenir l'activité de la catalase dans différentes régions de l'organe d'un seul individu. Même chez les juvéniles, dont l'intestin est plus court, les dosages ne nécessitent pas la réunion des intestins de plusieurs animaux. Chez la larve en prémétamorphose (stades X-XI) ou chez l'adulte âgé de 2 ans au moins, l'activité de la catalase diminue toujours de la région proximale de l'intestin à la région distale (Planche XXII).

b - Variations de l'activité catalasique intestinale au cours de l'ontogenèse naturelle des Anoures.

Les différences concernant la fréquence des microperoxysomes intestinaux, au cours du développement post-embryonnaire naturel de Rana catesbeiana et de Xenopus laevis, nous ont conduit à comparer l'évolution de l'activité catalasique. Des différences flagrantes ont été constatées (Planche XXII).

Chez Xenopus laevis, l'activité de la catalase intestinale des larves est élevée, et elle peut être supérieure à celle que l'on détermine dans l'intestin des adultes. Des valeurs plus faibles sont obtenues chez les

PLANCHE XXII

GRADIENT ANTERO-POSTERIEUR DE L'ACTIVITE CATALASIQUE INTESTINALE.

Chez la larve comme chez l'adulte de Rana catesbeiana, l'activité catalasique décroît de la région pylorique vers la région rectale de l'intestin.

VARIATIONS DE L'ACTIVITE CATALASIQUE AU COURS DU DEVELOPPEMENT POST-EMBRYONNAIRE NATUREL.

Le comportement de l'activité catalasique étudié dans le foie, le rein et l'intestin diffère sensiblement selon qu'il est considéré au cours du développement post-embryonnaire naturel de Rana catesbeiana ou de Xenopus laevis.
Les larves de Xenopus laevis présentent des activités catalasiques hépatiques, rénales et intestinales beaucoup plus élevées que celles des têtards de Rana catesbeiana. La métamorphose des larves de Xénope n'entraîne pas d'augmentation significative de ces activités.
Au contraire, le développement post-embryonnaire des larves de Rana catesbeiana s'accompagne d'une forte élévation de l'activité catalasique du foie, du rein et de l'intestin. Cette augmentation débute au moment de la métamorphose.

Abréviations :

† Moyenne ± erreur-standard de l'activité catalasique exprimée en unités de catalase par gramme de protéines.
* Probabilité d'après le test "t" de Student.
** Nombre d'expériences.

GRADIENT ANTERO-POSTERIEUR DE L'ACTIVITE CATALASIQUE DE L'INTESTIN DE RANA CATESBEIANA

Stades de développement	ACTIVITES DE LA CATALASE INTESTINALE†		P*
	Moitié antérieure	Moitié postérieure	
Larve (stades X.XII)	2330 ± 280 (5)**	920 ± 200 (6)	< 0,005
Adulte (2 ans)	5900 ± 880 (8)	2760 ± 325 (8)	< 0,005

VARIATIONS DE L'ACTIVITE CATALASIQUE AU COURS DU DEVELOPPEMENT POST-EMBRYONNAIRE NATUREL

Stades de développement	Espèces	ACTIVITES DE LA CATALASE †		
		FOIE	REIN	INTESTIN
Larve (Prémétamorphose)	Rana catesbeiana	8470 ± 1230 (9)**	1720 ± 170 (9)	2370 ± 150 (12)
	Xenopus laevis	52620 ± 8680 (9)	22950 ± 3400 (9)	4140 ± 610 (9)
Juvénile (1-2 semaines)	Rana catesbeiana	29570 ± 2990 (12)	5990 ± 510 (12)	3310 ± 380 (8)
	Xenopus laevis	42150 ± 3830 (13)	21600 ± 970 (13)	1780 ± 250 (13)
Adulte (2 ans)	Rana catesbeiana	69220 ± 9440 (8)	7780 ± 920 (7)	5890 ± 880 (8)
	Xenopus laevis	60370 ± 13720 (5)	33670 ± 4300 (5)	2900 ± 500 (6)

juvéniles, dont l'épithélium intestinal secondaire vient de se mettre en place. La substitution de l'épithélium intestinal n'est pas accompagnée d'une augmentation significative de l'activité catalasique.

L'activité catalasique mesurée dans la région antérieure de l'intestin de Rana catesbeiana diminue au moment où l'épithélium intestinal de la jeune grenouille se substitue à celui de la larve, mais elle augmente de façon significative chez le juvénile sorti de l'eau depuis deux semaines, et elle atteint des valeurs encore plus élevées chez l'adulte (Dauça et coll., 1982 [13]). Contrairement à ce que l'on observe chez Xenopus laevis, le développement post-embryonnaire des larves de Rana catesbeiana est marqué, peu après la sortie de l'eau, par une augmentation de la fréquence des microperoxysomes intestinaux et par une forte élévation de leur activité catalasique.

2. Evolution lors du développement induit.

Les variations de l'activité spécifique de la catalase intestinale ont été analysées chez des larves de Rana catesbeiana, en prémétamorphose (stades X-XI), soumises à une métamorphose induite par la DL-Thyroxine (Sigma), à la concentration finale de 5.10^{-8} g/ml. Pour chaque étape de l'expérience, l'activité de la catalase intestinale a été dosée chez 6 animaux traités et chez 4 témoins. Les moyennes des valeurs obtenues sont indiquées sur la figure C de la planche XXVI.

Le traitement hormonal engendre une diminution de l'activité spécifique de la catalase intestinale. La chute est importante chez les larves traitées depuis 3 jours, puisque l'intestin a perdu environ un tiers de son activité catalasique initiale. Par la suite, la baisse est moins rapide, et une faible activité est toujours mise en évidence dans l'épithélium intestinal larvaire en dégénérescence (6-9 jours). Après un traitement de 12 jours, les membres antérieurs émergent et les animaux tendent à sortir de la solution thyroxinée. Chez ces individus, dont l'épithélium intestinal secondaire vient de se mettre en place, l'activité spécifique de la catalase intestinale est encore faible et se situe aux environs de 600 unités/g Protéines.

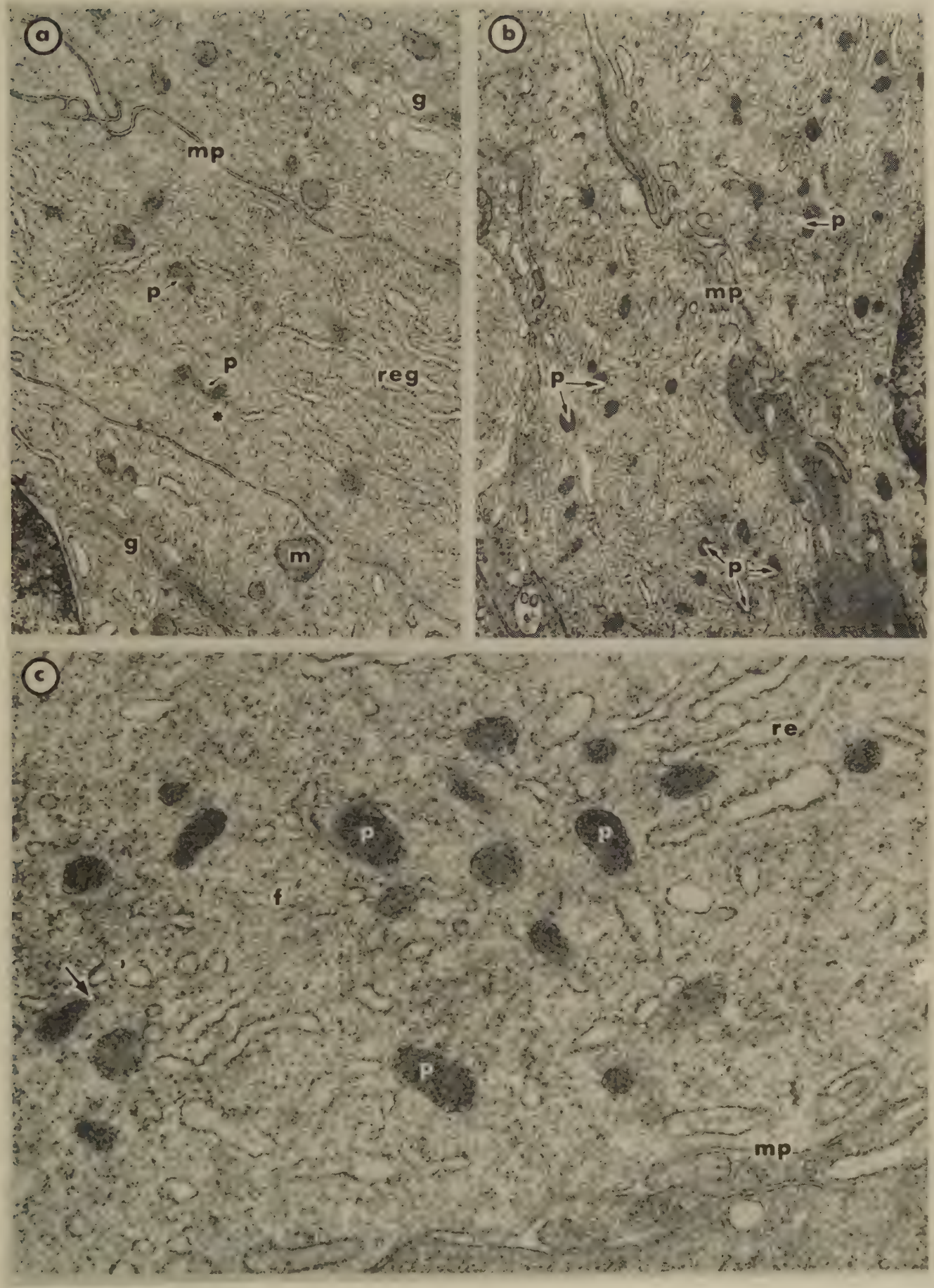
L'étude cytochimique chez des larves d'Alytes obstetricans révèle la présence des premières structures catalase-positives dans ce tissu à partir du 20ème jour seulement du traitement (Planche XXIII). Les microperoxysomes apparaissent préférentiellement à la base des épithéliocytes et à proximité des réseaux réticulaires avec lesquels ils sont parfois en continuité.

PLANCHE XXIII

ONTOGENESE DES MICROPEROXYSOMES INTESTINAUX AU COURS DE LA METAMORPHOSE INDUITE.

Figures a, b et c. Larves d'Alytes obstetricans traitées par la thyroxine pendant 20 jours.
Les premières structures DAB-positives apparaissent dans le cytoplasme des épithéliocytes intestinaux secondaires en voie de différenciation. Quelques microperoxysomes sont en continuité avec le réticulum endoplasmique (fig. a, astérisque; fig. c, flèche). Glut. OsO_4. phosphate. fig. a : x 17.000; fig. b : x 13.500; fig. c : x 30.000.

Abréviations :
f, filaments; g, dictyosome; m, mitochondrie; mp, membrane plasmique; re, réticulum endoplasmique; reg, réticulum endoplasmique granulaire.


a
g
mp
p
p
reg
g
m
b
p
mp
p
p
c
re
p
p
f
p
mp

C. GENERALISATION.

Afin de vérifier si les augmentations de la taille, de la fréquence et de l'activité catalasique des microperoxysomes, au cours du développement des larves de Rana catesbeiana, sont généralisables à d'autres organes, nous avons entrepris une étude cytochimique et morphométrique des peroxysomes et des microperoxysomes, ainsi qu'une analyse biochimique (dosage de l'activité de la catalase), en considérant le foie, le rein et le pancréas de cette même espèce, trois organes diversement remaniés à la métamorphose (Dauça et coll., article 14). D'autre part, l'activité de la catalase a été dosée dans le foie et le rein de Xenopus laevis, et comparée aux valeurs obtenues chez Rana catesbeiana.

1. Métamorphose naturelle.

a - Observations cytochimiques.

Les structures DAB-positives observées dans les hépatocytes des larves, des juvéniles et des adultes de Rana catesbeiana sont toujours volumineuses et correspondent à des peroxysomes. Sphériques ou légèrement ovoïdes chez les larves, ces organites perdent leur forme régulière au cours du développement et acquièrent des aspects plus variés. Le cytoplasme des hépatocytes est souvent marqué par l'existence de plages claires, correspondant à l'emplacement du glycogène extrait lors du traitement par le tampon cacodylate de sodium (Leskes et coll., 1971). Dans des conditions expérimentales identiques, la réaction cytochimique s'intensifie au niveau des peroxysomes, lorsque l'on passe des larves aux individus métamorphosés puis aux adultes.

Les peroxysomes rénaux sont préférentiellement observés dans la zone apicale des cellules des tubules proximaux et ceci à tous les stades du développement (Planche XXIV, a). Ils sont par contre absents dans les cellules des tubules distaux (Planche XXIV, b). Les peroxysomes rénaux ont l'aspect de vésicules ovoïdes, souvent prolongées par une extrémité effilée. La réaction cytochimique ne varie pas de manière significative dans chaque peroxysome, lorsque l'on passe d'un stade au suivant. Par ailleurs, il n'est pas rare de rencontrer dans les cellules des tubes collecteurs du rein adulte, de petites vésicules DAB-positives mesurant environ 0,20 micron et correspondant à des microperoxysomes.

Les cellules du pancréas exocrine de la larve et du juvénile sont caractérisées par la rareté des structures catalase-positives. Ces organites sont toujours beaucoup plus petits que les peroxysomes hépatiques ou rénaux,

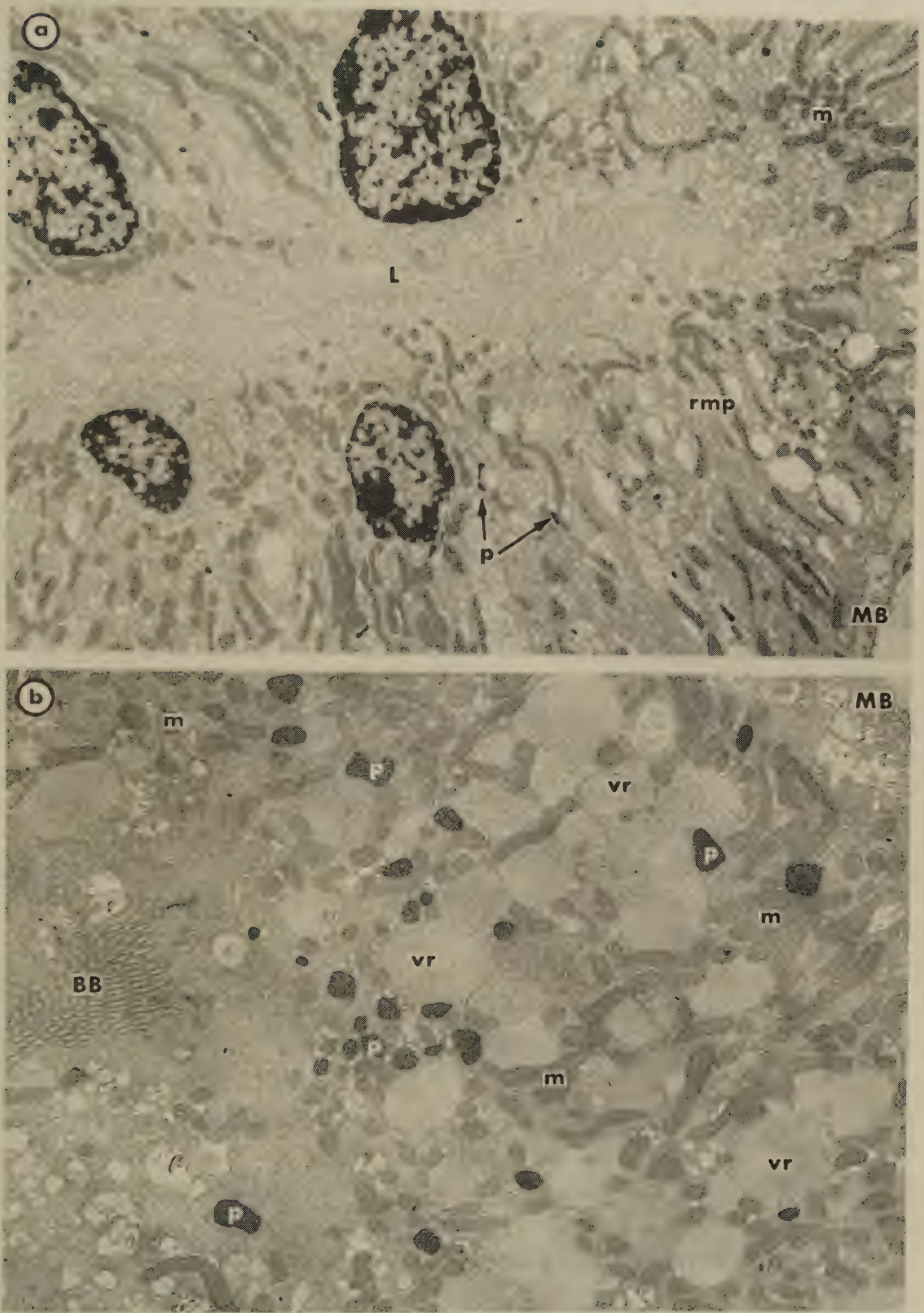
PLANCHE XXIV

PEROXYSOMES RENAUX.

fig. a. Mésonephros de Rana catesbeiana adulte.
Les peroxysomes (p) rénaux sont rares dans les cellules des tubules contournés distaux. Des mitochondries allongées sont disposées entre les replis de la membrane plasmique basale (rmp). Glut. OsO_4. cacodylate de sodium. x 5.300.

fig. b. Mésonephros de Rana catesbeiana adulte.
De nombreux et volumineux peroxysomes sont visibles dans le cytoplasme des cellules des tubules contournés proximaux. L'apex de ces cellules présente une "bordure en brosse" caractéristique. Glut. OsO_4.cacodylate de sodium. x 6.000.

Abréviations :
BB, "bordure en brosse"; L, lumière intestinale; m, mitochondrie; MB, membrane basale; p, peroxysome; rmp, replis de la membrane plasmique basale; vr, vésicule de réabsorption.


a
m
L
rmp
p
MB
b
MB
m
P
vr
P
m
vr
BB
P
m
vr
P

et ils se rangent dans la catégorie des microperoxysomes. D'une façon générale, le produit de la réaction cytochimique est granuleux et moins dense que celui que l'on obtient dans les mêmes conditions au niveau des peroxysomes du foie ou du rein. Les microperoxysomes pancréatiques sont souvent en continuité avec les cisternae du réticulum endoplasmique agranulaire.

b - Analyses morphométriques.

Les variations de la fréquence des structures DAB-positives contenues par le foie, le rein et le pancréas ont été estimées sur coupes fines, sans tenir compte de la surface cellulaire, au cours du développement spontané de Rana catesbeiana. Chez les larves en prémétamorphose, la fréquence de ces structures est modérée dans les hépatocytes et les cellules rénales des tubules proximaux, et elle est beaucoup plus faible encore dans les cellules pancréatiques. En fin de métamorphose, la fréquence des peroxysomes hépatiques et rénaux augmente, mais celle des microperoxysomes pancréatiques demeure pratiquement inchangée. Le passage à l'état adulte ne s'accompagne pas de variations importantes du nombre des peroxysomes hépatiques et rénaux, ni de celui des microperoxysomes pancréatiques (Dauça et coll., article 14).

La taille des peroxysomes hépatiques et rénaux augmente, mais celle des microperoxysomes pancréatiques reste stable au cours du développement naturel de Rana catesbeiana (Dauça et coll., article 14).

c - Activités spécifiques de la catalase.

Chez Rana catesbeiana comme chez Xenopus laevis, à tous les stades du développement, l'activité catalasique la plus élevée se rencontre toujours dans le foie, tandis que l'activité la plus faible caractérise le pancréas. L'activité de la catalase rénale est intermédiaire entre celle de l'intestin et celle du foie.

Les activités catalasiques présentes dans divers organes des larves de Xénope sont toujours beaucoup plus élevées que celles rencontrées chez les têtards de Rana catesbeiana (Planche XXII).

Le développement naturel des larves de Rana catesbeiana entraîne une élévation constante de l'activité spécifique de la catalase, aussi bien dans le foie que dans le rein. Pour ces deux organes, l'activité enzymatique augmente de façon significative chez les individus juvéniles devenus terrestres depuis une ou deux semaines, sans toutefois atteindre les valeurs élevées obtenues au stade adulte (Planche XXV). Pour le pancréas, les variations

PLANCHE XXV

VARIATIONS POST-EMBRYONNAIRES DE L'ACTIVITE CATALASIQUE.

Quel que soit le stade considéré, le foie présente toujours l'activité catalasique la plus élevée et le pancréas l'activité la plus faible. Le développement post-embryonnaire naturel des larves de Rana catesbeiana est marqué par une augmentation de l'activité catalasique du foie, du rein et du pancréas.

ACTIVITE CATALASIQUE DU FOIE, REIN ET PANCREAS

DURANT LE DEVELOPPEMENT DE RANA CATESBEIANA

Stades de développement	ACTIVITE CATALASIQUE (unités de catalase/g.Protéines)		
	FOIE	REIN	PANCREAS
Larve (stades X-XII)	8470 ± 1230[a] (9)	1720 ± 170 (9)[b]	590 ± 100 (7)
Juvénile (stades XXIV-XXV)	29570 ± 2990 (12)	5990 ± 510 (12)	690 ± 40 (5)[c]
Adulte (2 ans)	69220 ± 9440 (8)	7780 ± 920 (7)	930 ± 140 (7)

a. Moyenne ± erreur-standard

b. Nombre d'expériences

c. A ce stade, la réunion de 4 pancréas a été nécessaire pour chaque expérience.

d'activité sont beaucoup plus limitées. Une légère élévation est toutefois observée lorsque l'on passe de l'état larvaire à l'état adulte (Dauça et coll., article 14).

La situation est sensiblement différente chez Xenopus laevis, dont la métamorphose ne modifie pas substanciellement les activités spécifiques de la catalase hépatique et rénale. Les activités catalasiques dans le foie et le rein de la larve et du juvénile sont voisines. Chez l'adulte, ces activités s'élèvent faiblement.

2. Evolution de l'activité catalasique dans le foie et le rein lors d'une métamorphose induite.

Les variations de l'activité spécifique de la catalase hépatique et rénale ont été recherchées chez des larves de Rana catesbeiana traitées par la thyroxine, selon des conditions expérimentales déjà décrites. Les résultats obtenus pour le foie et le rein sont respectivement figurés dans les graphes (A) et (B) de la planche XXVI. Ces résultats expriment la moyenne (± erreur-standard) de 6 expériences pour les larves traitées et de 4 pour les témoins.

Une augmentation faible mais significative de l'activité spécifique de la catalase hépatique est constatée chez les larves immergées depuis 3 jours dans la solution thyroxinée. Entre 9 et 12 jours de traitement, une élévation beaucoup plus forte se produit dans le foie, tandis que les membres antérieurs apparaissent. Au-delà de 2 semaines, l'activité de la catalase hépatique se stabilise. L'enzyme présente alors une activité 5 à 6 fois supérieure à celle des témoins.

Jusqu'au 9ème jour du traitement hormonal, l'activité catalasique du rein des animaux thyroxinés évolue comme chez les témoins. Dans l'un et l'autre cas, on observe une baisse de l'activité de l'enzyme. Entre 9 et 15 jours de traitement, l'activité spécifique de la catalase augmente sensiblement dans le rein des larves thyroxinées, et à partir de 12 jours, elle dépasse l'activité mesurée chez les témoins. Un traitement d'une durée supérieure à deux semaines, double l'activité spécifique de la catalase rénale.

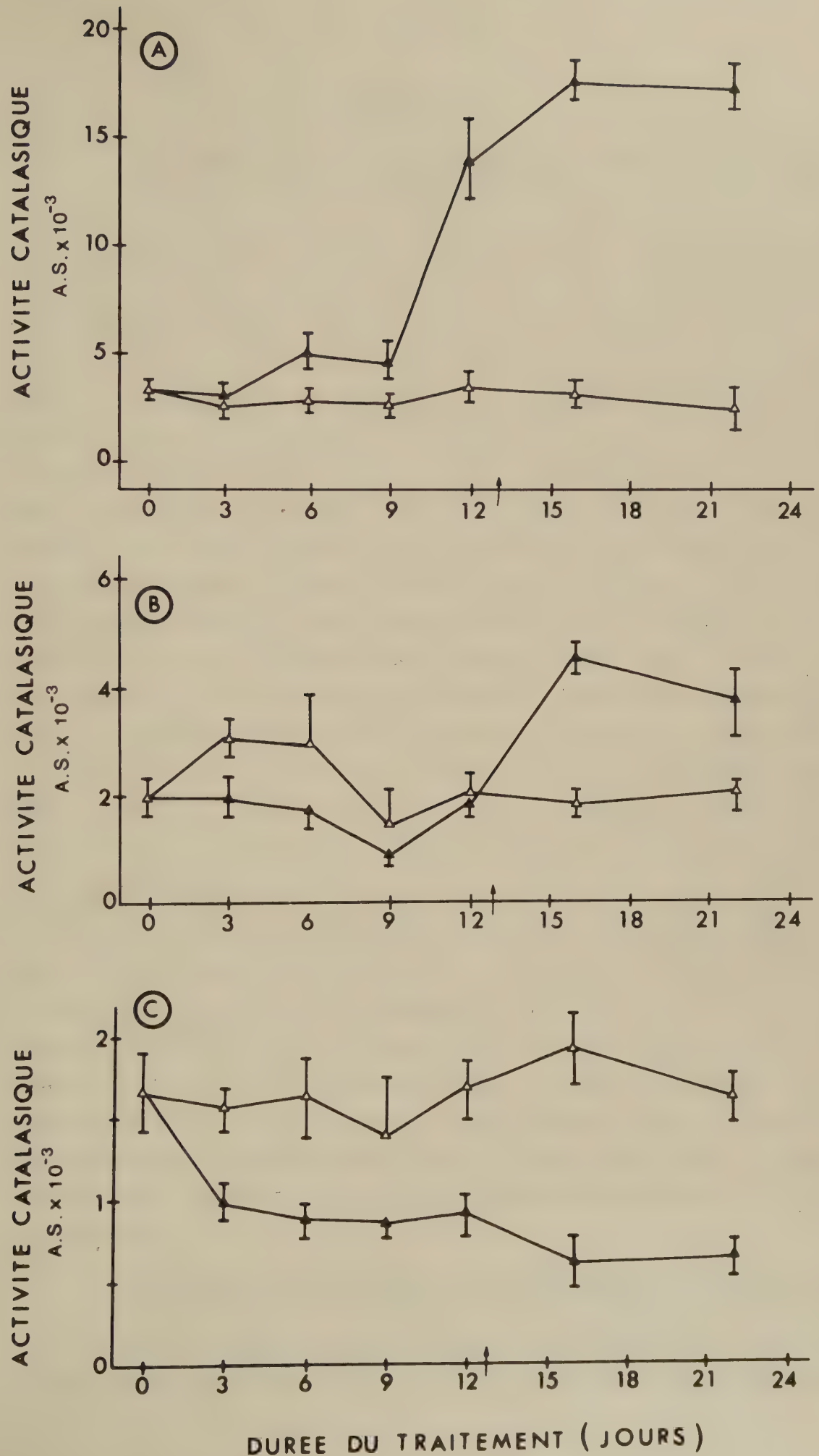
PLANCHE XXVI

VARIATIONS DE L'ACTIVITE CATALASIQUE LORS DE LA METAMORPHOSE INDUITE.

L'activité catalasique a été déterminée dans le foie (A), le rein (B), et l'intestin (C) au cours du traitement des larves de Rana catesbeiana par la thyroxine à la concentration de 5.10^{-8} g/ml.

Abréviations :

A.S, activité spécifique de la catalase en unités par gramme de protéines. (Δ), témoin; (▲), traité; (↟), stade du traitement hormonal à partir duquel les larves traitées commencent à sortir de la solution thyroxinée.


A
B
C
ACTIVITE CATALASIQUE
A.S. x 10⁻³
20
15
10
5
0
6
4
2
1
0 3 6 9 12 15 18 21 24
DUREE DU TRAITEMENT (JOURS)

DISCUSSION

CARACTERES DES MICROPEROXYSOMES INTESTINAUX DES AMPHIBIENS.

Ce travail constitue la première mise en évidence de microperoxysomes dans l'épithélium intestinal des Amphibiens Anoures (Rana catesbeiana, Alytes obstetricans et Xenopus laevis), à tous les stades du développement post-embryonnaire. Que ce soit dans l'épithélium intestinal larvaire, juvénile ou adulte, ces organites cytoplasmiques révélés cytochimiquement grâce à l'activité de leur catalase sont toujours de petite taille (0,30-0,40 micron) de forme sub-circulaire ou allongée, dépourvus de nucléoïde et limités par une membrane unique parfois en continuité avec celle du réticulum lisse. Chez la larve comme chez l'adulte, le nombre des microperoxysomes et l'activité catalasique diminuent le long du tractus digestif, de la région pylorique au rectum. De tels microperoxysomes ont été découverts dans de très nombreux tissus (Hruban et coll., 1972; Novikoff et coll., 1973). Dans l'épithélium intestinal plus précisément, leur présence a été pressentie par l'étude du tissu au microscope électronique (Yamamoto, 1966; Hugon et Borgers, 1968 b) puis définitivement confirmée par cytochimie, grâce aux travaux de Novikoff et Novikoff (1972). Parallèlement à ces observations, des particules riches en catalase ont été extraites d'homogénats de muqueuse intestinale de Téléostéens (Connock, 1973; Temple et coll., 1979) et de Mammifères (Connock et Pover, 1970; Peters, 1970, 1976)par fractionnement sub-cellulaire. Ces structures catalase-positives s'apparentent à celles que nous avons observées dans le pancréas de Rana catesbeiana, ou que Trandaburu (1980) a décrit dans ce même organe, chez Salamandra salamandra et Rana esculenta. Elles diffèrent morphologiquement des peroxysomes hépatiques et rénaux. Il est à noter cependant que la présence de peroxysomes dans une cellule n'exclut nullement celle des microperoxysomes. Nous avons pu constater la présence simultanée des deux types d'organites dans les cellules de certains tubules rénaux, et cette coexistence a également été rencontrée par Jones et coll. (1981) dans les cellules de la vessie de Bufo marinus.

ONTOGENESE DES PEROXYSOMES ET DES MICROPEROXYSOMES DES AMPHIBIENS.

Nos analyses montrent une augmentation considérable de la fréquence des microperoxysomes ainsi qu'une forte élévation de l'activité catalasique

dans l'épithélium intestinal secondaire des Amphibiens Anoures dont la métamorphose s'accompagne d'un changement d'habitat (Rana catesbeiana, Alytes obstetricans). Pour ces espèces, la fréquence des microperoxysomes intestinaux augmente de façon spectaculaire chez les individus juvéniles sortis de l'eau depuis quelques jours, tandis que l'activité de la catalase intestinale s'accroît sensiblement. L'augmentation de la fréquence des structures DAB-positives au moment de la substitution de l'épithélium intestinal n'est pas sans rappeler l'élévation de la fréquence des peroxysomes constatée dans le corps adipeux des Lépidoptères lors des remaniements subis par ce tissu durant la métamorphose de l'insecte (Larsen, 1976; Locke, 1981). Ces résultats confirment d'autre part l'hypothèse de Pipan et Psenicnik (1975), selon laquelle le nombre des microperoxysomes par cellule augmente dans l'intestin au fur et à mesure que les entérocytes des Vertébrés se différencient.

Chez Rana catesbeiana et Alytes obstetricans en métamorphose, une relation identique existe entre les processus de différenciation affectant les hépatocytes et les cellules rénales, et, l'ontogenèse de leurs peroxysomes. De ce point de vue, les peroxysomes constituent ici encore d'excellents marqueurs du degré de maturation cellulaire. Les changements survenant dans le développement des structures DAB-positives et dans l'activité spécifique de leur catalase sont beaucoup plus précoces pour les hépatocytes et les cellules rénales des tubules proximaux que pour les épithéliocytes intestinaux. Ces modifications sont détectées dans le foie et le rein des larves de Rana catesbeiana et d'Alytes obstetricans en fin de métamorphose (stades XXIV-XXV), au moment du passage au milieu terrestre, alors que, dans l'intestin, ces changements ne sont visibles que chez les juvéniles sortis de l'eau depuis plusieurs semaines. Pour ces deux espèces, le passage de l'état juvénile à l'état adulte n'est pas marqué par une augmentation significative de la fréquence des structures DAB-positives, alors que, durant cette transition, l'activité de la catalase continue de s'élever. Une évolution identique a déjà été décrite dans le foie et le rein des Mammifères venant de naître (Stevens, 1962; Patton et Nishimura, 1967; Tsukada et coll., 1968; Goeckermann et Vigil, 1975; Krahling et coll., 1979). Ceci a amené Masters et Holmes (1977) a postulé que les peroxysomes présents dans les deux organes sont plus ou moins immatures à la naissance, et qu'ils n'acquièrent leurs potentialités définitives qu'au stade adulte.

FONCTIONS.

La nature exacte du ou des rôles des peroxysomes et des microperoxysomes dans les cellules aérobies n'est pas complètement déterminée à l'heure actuelle. Définis comme des organites cytoplasmiques renfermant de la catalase, et, au moins une oxydase susceptible de catalyser la production de peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée (H_2O_2), ces formations sont présentes chez les Protistes, les Champignons, les plantes et les animaux, mais non nécessairement dans tous les types cellulaires ni à tous les stades du développement (Hogg, 1969; Masters et Holmes, 1977). D'un point de vue évolutif, De Duve (1969 a, b) considère que la première chaîne respiratoire des êtres aérobies primitifs s'est mise en place dans ces "organites fossiles", capables d'assurer à l'origine de nombreuses réactions d'oxydation et d'intervenir dans diverses voies métaboliques (cycle glyoxylique, β-oxydation des acides gras, transamination, catabolisme des purines). Avec l'apparition ultérieure des mitochondries, le rôle des peroxysomes aurait progressivement diminué au fur et à mesure que certaines de leurs enzymes auraient disparu.

S'il est classiquement reconnu que ces organites jouent un rôle fondamental dans le métabolisme des êtres aérobies, diverses fonctions leur ont été attribuées selon la nature des oxydases détectées. Leur participation active a été envisagée à la fois dans le métabolisme des glucides, des lipides et de certaines substances azotées (Masters et Holmes, 1979). Il est possible, comme l'a suggéré Reddy (1974), que ces structures exercent des fonctions différentes selon le tissu dans lequel elles sont rencontrées. Pour Scott et coll. (1969), les peroxysomes hépatiques et rénaux des Amphibiens seraient les principaux responsables du catabolisme de l'adénine et de la guanine. Leur conviction repose sur la présence, dans la matrice de ces organites, d'enzymes (urate oxydase, allantoïnase,...) qui interviennent dans la dégradation poussée des purines et conduisent, chez les Amphibiens comme chez les Poissons, à la formation d'urée et d'acide glyoxylique. D'autre part, la présence dans les microperoxysomes intestinaux des Mammifères de palmityl-coenzyme A oxydase (Small et coll., 1980) est une indication que ces organites occupent une place importante dans le métabolisme des lipides, comme les peroxysomes hépatiques, en participant avec les mitochondries à la dégradation des acides gras par β-oxydation. Ces organites doivent probablement jouer le même rôle dans l'épithélium intestinal des Amphibiens.

Novikoff et coll. (1973) pensent que les microperoxysomes pancréatiques contribuent à la maturation finale des grains de zymogène, en intervenant dans la récupération de lipides. Cette hypothèse trouve un support morphologique dans les observations cytochimiques que Trandaburu (1980) a réalisées dans le pancréas des Anoures et des Urodèles, lesquelles ont révélé l'existence de connexions tubulaires entre microperoxysomes et grains de zymogène. Par ailleurs, l'épithélium vésical des Amphibiens est à l'heure actuelle l'un des rares tissus de Vertébrés dont les microperoxysomes renferment de l'isocitrate-lyase et de la malate-synthétase, deux enzymes-clefs du cycle glyoxylique (Goodman et coll., 1980; Jones et coll., 1981). La présence de ces enzymes n'était alors connue que chez les Protistes, les plantes et quelques Invertébrés. Leur découverte dans les microperoxysomes de l'épithélium de la vessie de Bufo marinus montre que, contrairement à ce que l'on croyait, les enzymes capables de catalyser la synthèse des glucides à partir d'acides gras n'ont pas complètement disparu chez les Vertébrés.

SIGNIFICATION BIOLOGIQUE.

S'il n'est pas possible pour le moment de préciser parfaitement les fonctions cellulaires des peroxysomes, dans la mesure où nos connaissances sur la nature de leurs substrats endogènes sont encore très limitées, on ne peut s'empêcher d'être frappé par le remarquable synchronisme existant entre les évènements de la métamorphose et l'ontogenèse des peroxysomes des Amphibiens. Il est à ce propos troublant de constater que, chez les Vertébrés en cours de développement, la genèse des peroxysomes et des microperoxysomes se produit lorsque l'animal quitte le milieu aquatique pour devenir terrestre. Ainsi, la métamorphose des Anoures représente une étape capitale dans l'ontogenèse des structures catalase-positives chez les seules espèces changeant alors d'habitat. Chez Xenopus laevis par contre, la fréquence des peroxysomes et des microperoxysomes ainsi que l'activité catalasique présente dans le foie, le rein et l'épithélium intestinal des larves, sont voisines voire plus élevées que chez les adultes. Plusieurs différences distinguent encore cette espèce des autres Anoures. Les activités spécifiques des complexes enzymatiques de la chaîne respiratoire ne sont pas stimulées chez les larves de Xénope traitées par la T_4 (Kistler et Weber, 1974), contrairement à ce qui se produit chez Rana catesbeiana (Blucker et Cohen, 1976; Cohen et coll., 1978). Les modifications ultrastructurales qui affectent les mitochondries des hépatocytes de larves de Rana catesbeiana en métamorphose

induite (Tata, 1967; Bennett et coll., 1970; Cohen, 1970) ne se produisent pas chez les têtards de Xénope soumis au même traitement (Kistler et Weber, 1975). Ajoutons que la réponse calorigène observée chez la plupart des larves d'Anoures traitées par les hormones thyroïdiennes (Fletcher et Myant, 1959; Lewis et Frieden, 1959) n'apparaît pas lors de la métamorphose induite de Xenopus laevis (Fletcher et Myant, 1959). Les peroxysomes et les mitochondries des Anoures présentent ainsi une remarquable similitude dans leur comportement au moment de la métamorphose spontanée ou induite. Une crise identique est observée dans l'ontogenèse des peroxysomes au cours du développement des Amniotes. Ces organites deviennent plus nombreux au moment où l'embryon se débarrasse de ses annexes et quitte le liquide amniotique. Stephens et Bils (1967) ont noté un accroissement du nombre des peroxysomes dans le foie du Poussin, au cours de la période qui précède et qui suit l'éclosion. De même, chez les Mammifères, une forte augmentation du nombre des peroxysomes hépatiques (Peters et coll., 1963; Tsukada et coll., 1968; Hruban et Recheigl, 1969; Rohr et coll., 1971; Tu et coll., 1973; Schmucker et coll., 1974; David, 1980) rénaux (Goeckermann et Vigil, 1975) et corticosurrénaliens (Black et Bogart, 1973) ainsi que des microperoxysomes pulmonaires (Schneeberger, 1972) et intestinaux (Pipan et Psenicnik, 1975; Calvert et Ménard, 1978) se produit entre les phases pré- et post-natales. L'augmentation de la fréquence de ces organites s'accompagne aussi de modifications de leur morphologie et d'une élévation sensible de l'activité de la catalase.

La signification biologique des bouleversements affectant la genèse et l'activité des peroxysomes et des microperoxysomes, à un stade crucial du développement des Vertébrés, n'est pas encore clairement établie. Chez les Anoures, les changements concernant la fréquence, la taille et l'activitié catalasique des peroxysomes hépatiques et rénaux et des microperoxysomes intestinaux lors du développement post-embryonnaire, sont contemporains de l'augmentation de la concentration plasmatique des hormones thyroïdiennes. D'autre part, le traitement des larves de Rana catesbeiana par la thyroxine exogène déclenche une forte élévation de l'activité catalasique du foie et du rein, après 9 jours de latence. Dans l'intestin des traités, la substitution complète de l'épithélium augmente sensiblement ce retard, de sorte que les premiers microperoxysomes faiblement catalase-positifs n'apparaissent dans le tissu qu'après 20 jours d'exposition à l'hormone. La stimulation de l'activité catalasique des peroxysomes et des microperoxysomes des Anoures est vraisemblablement liée à l'accélération des méca-

nismes d'oxydation que déclenchent les hormones thyroïdiennes. Il est possible comme l'ont suggéré Lewis et Frieden (1959) que le cycle de Krebs ne soit pas la seule voie métabolique oxydative au cours de la métamorphose naturelle ou induite. Dans cette hypothèse, les peroxysomes et les microperoxysomes constituent une voie annexe particulièrement active.

CONCLUSION

L'emploi d'une technique cytochimique révélant in situ l'activité de la catalase, nous a permis de démontrer la présence d'une part de microperoxysomes dans les épithéliocytes intestinaux absorbants et dans les cellules pancréatiques, et, d'autre part de peroxysomes dans les hépatocytes et dans les cellules rénales des tubules contournés proximaux des Amphibiens Anoures larvaires, juvéniles et adultes.

Ces organites cytoplasmiques, de forme sphérique ou ovoïde, présentent parfois une continuité avec le réticulum endoplasmique lisse dont ils sont originaires.

L'activité spécifique de la catalase a été déterminée dans le foie, le rein, l'intestin et le pancréas par une méthode spectrophotométrique. Des organes étudiés, le foie est toujours celui dont l'activité catalasique est la plus élevée, tandis que le pancréas présente l'activité la plus faible. L'activité catalasique du rein est supérieure à celle mesurée dans l'intestin. La fréquence des microperoxysomes et l'activité catalasique de la muqueuse intestinale présentent un gradient décroissant de la région pylorique à la région rectale.

L'ontogenèse des structures catalase-positives a été étudiée lors du développement post-embryonnaire naturel ou induit des Anoures.

- Chez les espèces dont la métamorphose s'accompagne d'un changement d'habitat (Rana catesbeiana, Alytes obstetricans), la fréquence des peroxysomes du foie et du rein et des microperoxysomes intestinaux augmente fortement au cours du passage du stade larvaire au stade juvénile. Parallèlement, l'activité catalasique de ces organes augmente également. Cette élévation se poursuit jusqu'au stade adulte alors que le nombre des peroxysomes et des microperoxysomes reste stable. Chez Rana catesbeiana, le foie, le rein et l'intestin des larves en prémétamorphose présentent une activité catalasique qui correspond respectivement à 12, 22 et 40 % de l'activité de cette enzyme dans les organes adultes. Après métamorphose, ces pourcentages passent pour chacun des trois organes respectivement à 43, 77 et 56 %. Les remaniements subis par les cellules pancréatiques exocrines s'accompagnent d'une faible augmentation de la fréquence de leurs microperoxysomes et de l'activité de leur catalase.

- Au contraire, chez Xenopus laevis, espèce qui demeure aquatique après métamorphose, la fréquence et l'activité catalasique des peroxysomes et des microperoxysomes n'augmentent pas au cours du développement post-embryonnaire du foie, du rein et de l'intestin.

- Le traitement des larves d'Anoures par la thyroxine se traduit par une diminution de l'activité catalasique de l'intestin. Ce n'est qu'après 3 semaines de traitement hormonal que les premiers microperoxysomes commencent à apparaître dans les épithéliocytes secondaires néoformés. Au contraire, dans le foie et le rein, organes dont l'histologie est moins remaniée lors de la métamorphose induite, la thyroxine exogène déclenche après une latence de 9 jours, une élévation significative de l'activité catalasique. Le niveau de cette activité double dans le mésonéphros, et augmente de 5 à 6 fois dans les hépatocytes. Ces changements tardifs apparaissent postérieurement à ceux constatés dans les mitochondries.

Nous avons montré que chez les larves d'Amphibiens Anoures, il existe une relation étroite entre leur changement d'habitat et l'ontogenèse de leurs peroxysomes et microperoxysomes.

- La teneur élevée en oxygène du milieu aérien ne peut pas être considérée comme le facteur responsable de la prolifération des peroxysomes et de la stimulation de leur activité catalasique. En effet, chez les Oiseaux et les Mammifères, les mêmes changements se produisent et débutent juste avant l'éclosion ou la naissance. D'autre part, le rapport définitif entre le nombre des peroxysomes (ou des microperoxysomes) et celui des mitochondries n'est atteint que tardivement dans les tissus des Amphibiens Anoures, des Oiseaux et des Mammifères, bien après que ces animaux aient commencé à utiliser l'oxygène atmosphérique.

- De tels bouleversements ne semblent pas non plus conditionnés par le changement de régime alimentaire qui survient chez ces Vertébrés en rupture trophique. Ils ne se produisent pas au cours du développement post-embryonnaire des larves microphages de Xénope qui deviennent carnivores en fin de métamorphose. D'autre part ces transformations se produisent aussi bien dans les épithéliocytes intestinaux, les hépatocytes que dans les cellules rénales.

- Il nous semble plus vraisemblable que ces augmentations du nombre des peroxysomes et des microperoxysomes et de l'activité de leur catalase, répondent à une accélération des réactions d'oxydation, liée à la mise en place de fonctions cellulaires spécifiques. Chez les Amphibiens Anoures, les modifications qui surviennent dans les hépatocytes, les cellules du mésonéphros et les épithéliocytes intestinaux sont peut être associées au changement de mode d'excrétion, et au passage à l'uréotélie.

DISCUSSION GENERALE

REMODELAGE INTESTINAL.

De tous les organes composant le tractus digestif, l'intestin est celui qui présente les remaniements les plus spectaculaires au moment de la métamorphose.

A/ Substitution de l'épithélium intestinal.

L'ampleur de la dégénérescence de l'épithélium intestinal larvaire est soulignée par le fait que l'intestin des têtards d'Anoures constitue la plus grande partie du tube digestif et se présente comme un organe particulièrement allongé dont le volume considérable est responsable de la forme rebondie de l'abdomen. Les processus d'histolyse y sont associés à l'apparition de nombreux lysosomes dont les enzymes (phosphatase acide, cathepsine, N-acétyl-β-glucosaminidase, etc...) provoquent l'hydrolyse des constituants organiques des épithéliocytes primaires. Au climax, le matériel altéré est ségrégé dans des vacuoles autophagiques puis libéré dans la lumière intestinale après rupture de la "bordure en brosse" apicale. A ce stade, les larves d'Anoures cessent de s'alimenter. Non seulement l'appareil filtrant a dégénéré, mais les épithéliocytes intestinaux primaires sont beaucoup trop altérés pour jouer un rôle absorbant et l'épithélium intestinal secondaire n'est pas encore en place.

Le développement de ce dernier est tout à fait spectaculaire. La capacité des cellules souches à former l'épithélium intestinal secondaire dans un laps de temps relativement court est de ce point de vue remarquable. Présentes très précocément au cours du développement de la larve, elles sont situées sous les épithéliocytes intestinaux primaires où elles reposent à l'état quiescent contre la membrane basale. Avant la métamorphose, l'adhésivité est étroite entre les membranes plasmiques des cellules souches et celles des épithéliocytes sus-jacents. Le nombre de ces cellules et la surface qu'elles occupent ne cessent de croître au paroxysme de la métamorphose. Des îlots de cellules embryonnaires deviennent reconnaissables au début du climax. Ils sont le siège d'une intense prolifération cellulaire que confirment nos observations ultrastructurales et radioautographiques, complétées par nos dosages biochimiques. La fréquence des mitoses, l'indice de marquage des cellules insulaires et l'activité spécifique de l'ADN intestinal augmentent et passent par un maximum au climax. La prolifération et le

début de différenciation des cellules souches s'accompagnent rapidement de la perte des contacts membranaires entre ces cellules et les épithéliocytes intestinaux larvaires en dégénérescence. La disparition au climax des contacts entre les épithéliocytes primaires et secondaires résulte de l'altération de leurs mécanismes de liaison; elle suggère que les deux populations épithéliales diffèrent au niveau membranaire par leurs ligands histospécifiques. D'autres différences morphologiques, cytologiques et biochimiques distinguent ces deux tissus.

B/ Caractères des épithéliocytes intestinaux secondaires.

Alors que l'épithélium intestinal de la larve est plat et non plissé, cet épithélium est villeux chez le juvénile nouvellement métamorphosé. La paroi intestinale présente en effet après métamorphose des villosités transversales sur toute la longueur de l'organe et dont la hauteur diminue du duodénum au rectum. La surface d'échange de l'épithélium intestinal secondaire est augmentée par l'existence de tels replis qui compensent ainsi le raccourcissement de l'organe. Les villosités intestinales participent également par leurs mouvements à la propulsion des aliments solides. L'intestin recouvre très rapidement ses fonctions de digestion et d'absorption grâce à une forte augmentation des activités spécifiques des hydrolases digestives, en post-climax. La plupart de ces enzymes sont associées et intégrées à la structure de la nouvelle "bordure en brosse". Les cinq hydrolases (phosphatase alcaline, maltase, glucoamylase, tréhalase et γ-glutamyltransférase) détectées dans l'intestin larvaire, au niveau de la "bordure en brosse" des épithéliocytes primaires, sont également présentes sur les microvillosités des épithéliocytes secondaires. Cependant, le développement post-embryonnaire de l'intestin d'Anoures s'accompagne de changements quantitatifs dans l'activité de certaines enzymes des microvillosités et de modifications dans leurs localisations cellulaires ainsi que dans leurs propriétés. L'activité spécifique de la γ-glutamyltransférase déterminée à partir de la "bordure en brosse" intestinale isolée et purifiée est quatre fois plus élevée chez l'adulte que chez la larve. Compte-tenu de l'hydrolyse de plusieurs peptides que provoque cette enzyme et de sa participation possible, quoique discutée, au mécanisme d'absorption des acides aminés, cette augmentation est parfaitement compatible avec le passage au régime carnivore et insectivore surve-

nant à la métamorphose. Les activités spécifiques des quatre autres hydrolases varient peu lorsque l'on compare la larve à l'adulte. Pour chacune de ces cinq enzymes, la fraction soluble présente dans le hyaloplasme des épithéliocytes diminue durant la métamorphose, au profit de la fraction insérée dans la membrane de la "bordure en brosse". La densité enzymatique de cette dernière augmente donc au cours du développement post-embryonnaire. Le nombre et la répartition des protéines intestinales des microvillosités, discriminées par électrophorèse après solubilisation par le SDS de leur support membranaire, varient fortement au cours du développement post-embryonnaire. Les bandes protéiques deviennent plus nombreuses lorsque les larves ont achevé leur métamorphose et que le nouvel épithélium intestinal est en place. Les composants les plus importants de la membrane des microvillosités sont tous des glycoprotéines d'une masse moléculaire comprise entre 150.000 et 300.000 daltons. Identifiées par leurs différentes activités, les enzymes de la "bordure en "brosse intestinale présentent des mobilités électrophorétiques toujours plus grandes avant la métamorphose qu'après. Ainsi, la phosphatase alcaline a une masse moléculaire de l'ordre de 150.000 daltons chez la larve et de 170.000 daltons chez le juvénile ou l'adulte. De même, la maltase et la glucoamylase associées en complexes enzymatiques correspondent à des glycoprotéines de masses moléculaires 245.000 et 190.000 daltons chez la larve contre 255.000 et 220.000 daltons chez l'adulte. La phosphatase alcaline est plus sensible à l'action dénaturante du SDS chez la larve que chez l'adulte. Les différences dans la sensibilité au détergent et dans la mobilité électrophorétique suggèrent l'existence pour la phosphatase alcaline de la larve et de l'adulte d'isoenzymes au cours du développement post-embryonnaire.

Les différences existant entre les épithéliocytes intestinaux primaires et secondaires ne portent pas uniquement sur les caractères des enzymes de leurs microvillosités. Chez les larves d'Anoures dont le développement entraîne un changement radical d'habitat marqué par un passage sur terre (Alytes obstetricans, Rana catesbeiana...), les deux tissus épithéliaux se distinguent très nettement voire même de façon spectaculaire par la fréquence, la taille et l'activité catalasique de leurs microperoxysomes. Celles-ci sont toujours plus élevées après métamorphose, alors qu'elles ne varient pas ou peu dans l'intestin des espèces qui, comme Xenopus laevis peuvent accomplir l'ensemble de leur développement post-embryonnaire en milieu aquatique. De même, l'activité catalasique des peroxysomes hépatiques et rénaux ne change pas de façon significative au cours de la métamorphose

des larves de Xénope, alors qu'elle augmente fortement durant le développement de Rana catesbeiana. Ces augmentations apparaissent toujours plus précocement dans les hépatocytes et les cellules rénales des tubules proximaux que dans les épithéliocytes intestinaux secondaires. L'élévation dans ces divers types cellulaires du niveau de l'activité catalasique ne semble pas être directement conditionnée par le changement de régime alimentaire dans la mesure où elle ne se produit pas chez Xenopus laevis dont les larves microphages se métamorphosent en des juvéniles carnivores. Une telle augmentation dans l'activité spécifique de la catalase semble davantage répondre à une accélération des réactions d'oxydation au sein des peroxysomes et des microperoxysomes, entraînant de ce fait une production accrue de peroxyde d'hydrogène lors du changement d'habitat.

ACTION DES HORMONES THYROÏDIENNES.

Chez les Anoures, le rôle des hormones thyroïdiennes est primordial dans le déclenchement et l'accomplissement des remaniements qui affectent les épithéliocytes intestinaux au cours de la métamorphose. L'action de ces hormones sur les cellules-cibles est suggérée par le remarquable synchronisme qui existe au climax entre l'augmentation de leurs concentrations plasmatiques et les transformations morphologiques, histologiques et biochimiques des épithéliocytes intestinaux. Cette action a été reproduite et analysée après induction d'une métamorphose par la thyroxine exogène.

A/ Caractères de la réponse des épithéliocytes intestinaux à la thyroxine.

Les hormones thyroïdiennes agissent directement sur les tissus-cibles sans l'aide d'intermédiaires. L'action directe de la T_4 sur l'épithélium intestinal des larves d'Anoures a été démontrée in vitro. La culture de ce tissu en présence de thyroxine entraîne l'apparition de transformations identiques à celles observées in vivo (Pouyet et Hourdry, 1980). Le même résultat est obtenu par immersion des larves d'Anoures dans une solution aqueuse de thyroxine. Ce traitement exogène n'exclut cependant pas la possibilité d'une conversion préalable de T_4 en T_3 par déiodation, avant toute action au niveau périphérique.

- La réponse des tissus des larves d'Amphibiens à l'action des hormones thyroïdiennes est spécifique et préétablie. A l'intérieur d'un même tissu, les réponses peuvent être différentes. Un exemple est fourni par l'évolution de l'épithélium intestinal lors du traitement des larves

d'Anoures par la T_4. Si les épithéliocytes intestinaux primaires dégénèrent, les cellules souches basales au contraire prolifèrent. La coexistence et la réalisation coordonnée de ces deux programmes génétiques assurent au climax une substitution épithéliale harmonieuse dans l'intestin. Lors d'un stimulus hormonal, la réalisation de tels programmes préétablis n'est possible qu'après acquisition de leur compétence par les tissus. Au niveau de l'intestin cette capacité semble apparaître précocement puisque le traitement par la T_4 de très jeunes têtards pris en prémétamorphose (stades IV-V) entraîne déjà l'apparition de réponses spécifiques de la part des épithéliocytes larvaires et des cellules souches.

- L'action des hormones thyroïdiennes sur les cellules-cibles n'est détectable qu'après une certaine latence. Cette dernière est fonction de très nombreux paramètres : nature et concentration de l'hormone employée espèce considérée, âge des individus, type cellulaire choisi, nature de la réponse cellulaire. Les premières variations morphométriques concernant la longueur et le poids de l'intestin sont manifestes après un traitement des larves de 24 heures par la T_3 et de 48 heures par la T_4. La dégénérescence de l'épithélium intestinal larvaire débute toujours avant l'amorce de prolifération des cellules souches. D'un point de vue biochimique, les activités des enzymes de la "bordure en brosse" se manifestent avant l'activité catalasique des microperoxysomes. De même, lors d'une métamorphose induite par la T_4, les augmentations constatées dans les activités des enzymes mitochondriales du foie, précèdent toujours l'élévation de l'activité catalasique des peroxysomes.

Après avoir souligné l'efficacité de la thyroxine à induire une métamorphose artificielle et défini les caractères de la réponse des tissus-cibles, nous pouvons désormais nous poser la question de savoir sous quelle forme agit réellement cette hormone après avoir pénétré et circulé dans le milieu intérieur des larves d'Anoures.

B/ Forme moléculaire d'action des hormones thyroïdiennes.

La forme sous laquelle la thyroxine agit sur les tissus-cibles des Amphibiens lors de leur métamorphose naturelle ou induite, est controversée. Une transformation périphérique de la T_4 en T_3 a été constatée chez la plupart des Vertébrés. La thyroxine circulante constitue un important précurseur de la triiodothyronine plasmatique chez l'homme (Braverman et coll.,

1970; Sterling et coll., 1970; Pittman et coll., 1971) et d'autres Mammifères (Schwartz et coll., 1971; Fisher et coll., 1972). La conversion extra-thyroïdienne de la T_4 en T_3 se produit également chez les Oiseaux (Astier et Newcomer, 1978), les Amphibiens adultes (Sawin et coll., 1981) et les Poissons (Eales, 1977 a, b). La conversion de la T_4 en T_3 au moment de la métamorphose naturelle des larves d'Anoures est toutefois discutée (Etkin, 1968; Frieden et Just, 1970; Ashley et Frieden, 1972; Griswold et coll., 1972; Dratman, 1974; Kistler et coll., 1975 a). Pour de nombreux auteurs, elle ne constituerait pas une condition indispensable à l'action hormonale. Malgré l'existence d'une thyroxine-désiodinase dans différents viscères des larves (Yamamoto, 1964), Ashley et Frieden (1972) n'ont décelé aucune désiodation périphérique de T_4 en T_3, durant la métamorphose. Robinson et Galton (1976), Galton et Munck (1981) émettent un point de vue plus nuancé et selon ces auteurs, les deux hormones sont soumises à des processus de désiodation au cours de leur métabolisme. Malgré la coïncidence existant au climax entre l'action périphérique des hormones thyroïdiennes et l'augmentation de leur désiodation, les deux phénomènes ne seraient toutefois pas corrélés. Selon Leloup et Buscaglia (1980) une partie de la thyroxine des larves d'Anoures est effectivement désiodée en triiodothyronine. Cette conversion augmente au climax et expliquerait les fortes concentrations plasmatiques alors obtenues pour la T_3. Dans de telles conditions, la métamorphose des Amphibiens correspondrait non seulement à une élévation de l'activité thyroïdienne se manifestant par un accroissement de la sécrétion (surtout de la T_4) mais, également, à une stimulation de la production extra-thyroïdienne de la T_3, véritable mécanisme d'amplification d'autant plus efficace que la T_3 est plus active que la T_4 (Roth, 1953; Frieden et Yoshizato, 1974; Kistler et coll., 1977; Robinson et coll., 1977). Cependant, la conversion d'une fraction (non déterminée) de la T_4 en T_3 n'exclut nullement l'action spécifique de chacune des hormones thyroïdiennes dans les cellules-cibles. Alors que chez les Mammifères, un seul type de récepteurs nucléaires existe pour les hormones thyroïdiennes, avec une affinité pour la T_3 dix fois plus importante que celle pour la T_4 (Surks et Oppenheimer, 1977; Oppenheimer et coll., 1979), la situation est tout à fait différente chez les larves d'Amphibiens. Des réactions de compétition entre la ^{125}I-T_3 et la ^{125}I-T_4 montrent que la triiodothyronine se fixe sur deux types de récepteurs nucléaires, tandis que la thyroxine ne se lie qu'à un seul type. L'existence

de sites spécifiques de la T_4, présentant une affinité élevée et une capacité limitée pour cette hormone, a été démontrée dans le foie et la queue de ces larves (Yoshizato et Frieden, 1975; Yoshizato et coll., 1975; Kistler et coll., 1975 a; Ergenzen et Gorbman, 1977; Toth et Tabachnick, 1979; Galton, 1980 a, b; Galton et Cohen, 1980). Si les récepteurs nucléaires de la T_3 sont plus nombreux que ceux de la T_4, l'affinité des deux hormones thyroïdiennes pour leurs récepteurs est identique (White et Nicoll, 1981). L'efficacité plus grande de la T_3 s'expliquerait alors par la seule supériorité de ses récepteurs nucléaires. Ce point de vue est cependant discuté par Galton (1980 a). Selon cet auteur, dans les noyaux des hépatocytes, les récepteurs de la T_4 sont plus nombreux que ceux de la T_3, mais l'affinité des récepteurs nucléaires serait plus grande pour la T_3 que pour la T_4. Quoi qu'il en soit, le rôle joué par la thyroxine est loin d'être négligeable. La compétence des tissus pour la T_4, c'est-à-dire leur capacité à répondre à l'action de cette hormone, apparaît précocément (Dodd et Dodd, 1976) et elle augmente graduellement au cours du développement larvaire (Chou et Kollros, 1974). Par sa concentration progressivement croissante, la thyroxine stimulerait l'augmentation du nombre des récepteurs des cellules-cibles pour la T_3 (Yoshizato et Frieden, 1975).

L'utilisation de diverses thyronines, voisines de la T_3 ou de la T_4, et la comparaison de leur efficacité à induire l'uréotélie, la résorption caudale ou le développement des membres, a permis de définir les conditions d'une action thyromimétique chez des larves d'Anoures (Frieden et Yoshizato, 1974; Jorgensen, 1978). La molécule doit posséder :

* Deux cycles aromatiques disposés perpendiculairement et reliés entre eux par un atome d'oxygène, de soufre ou de carbone.

* Une chaîne latérale anionique comportant 2 ou 3 atomes de carbone (acide acétique,...) et d'autre part un radical phénolique -OH, disposés à chaque extrémité du squelette fondamental et fixés en position para sur chacun des cycles aromatiques.

* Des substituts relativement volumineux en position 3 et 5 (radical méthyle, halogènes,...).

L'activité d'une telle structure est fortement accrue par la présence d'un substitut halogène ou alkyl en position 3', mais elle est diminuée par l'occupation simultanée des positions 3' et 5'. Il en résulte qu'une molé-

cule répondant aux critères précédents est capable de déclencher une activité thyromimétique même si elle est dépourvue d'iode. L'activité de la molécule est conditionnée par ses caractères stériques. La présence de l'iode dans la molécule de T_3 ou de T_4 est en fait la conséquence de circonstances évolutives particulièrement favorables à l'halogène.

C/ Modes d'action des hormones thyroïdiennes.

Les hormones thyroïdiennes, et notamment la thyroxine, agissent de différentes façons sur les cellules souches de l'épithélium intestinal des larves d'Anoures. Non seulement elles stimulent la prolifération des cellules embryonnaires, mais elles contribuent aussi très largement à leur différenciation structurale et dans une certaine mesure à leur maturation fonctionnelle.

1. Synthèse d'ADN et division cellulaire.

Nous avons montré que le traitement des larves d'Anoures par la thyroxine accélère fortement la prolifération des cellules embryonnaires basales de l'épithélium intestinal. Une telle stimulation a pu être appréciée par des analyses morphométriques et radioautographiques au moyen de la thymidine tritiée. Le précurseur radioactif est fortement incorporé par l'ADN en néosynthèse des cellules embryonnaires de l'épithélium intestinal et à un moindre degré, par les noyaux des cellules du chorion, de la musculeuse et de la séreuse. La thyroxine induit une forte augmentation de l'indice de marquage des noyaux des cellules souches. Cette hormone entraîne de la même façon une augmentation significative de l'activité spécifique de l'ADN intestinal, puisque celui-ci est synthétisé plus activement. D'autre part, l'action conjuguée de la thyroxine et des rayons X montre que la prolifération des cellules souches de l'épithélium intestinal diminue chez les têtards irradiés puis traités par la thyroxine mais que l'indice de marquage augmente brusquement chez les larves maintenues 9 jours dans la solution de thyroxine, après l'irradiation. Les cellules souches irradiées sont donc capables d'une récupération avec le temps.

L'accélération des processus duplicatifs est aussi particulièrement évidente dans les tissus et organes qui s'accroissent lors de la métamorphose spontanée ou induite. L'activité mitotique des cellules de l'aire antérieure de l'encéphale augmente de 6 fois après implantation d'une source thyroxinée dans le 4ème ventricule ou contre la région du plexus choroïde

(Weiss et Rossetti, 1951). De même, l'immersion de jeunes têtards d'Anoures dans une solution thyroxinée déclenche une prolifération des cellules du métencéphale (Baffoni, 1957). Après radioautographie, la cornée, la rétine et le cristallin présentent de nombreux noyaux marqués au voisinage d'une pastille de cholestérol enrichie en thyroxine (Kaltenbach et Hobbs, 1972; Beach et Jacobson, 1979 b). La thyroxine accélère la synthèse d'ADN et raccourcit la durée de la phase G_1 des cellules épidermiques (Wright, 1977), elle stimule également la division des cellules glandulaires cutanées (Mc Garry et Vanable, 1969). Une augmentation significative de l'activité spécifique de l'ADN est obtenue pour le pancréas à l'issue de sa phase de nécrose (Kim et Slickers, 1971), pour les poumons (Atkinson et Just, 1975), et dans les érythrocytes au moment de leur substitution (Atkinson, 1971; Just et Atkinson, 1972). Une stimulation de la synthèse et de la duplication de l'ADN est également démontrée dans des organes à population cellulaire subconstante. Le contenu en ADN total augmente assez peu dans le foie lors d'une métamorphose spontanée ou induite. Ceci suggère une relative stabilité du nombre des hépatocytes (Tata, 1967; Cohen, 1970; Kistler et coll., 1975 b; Van Denbos et Frieden, 1976; Morris et Cole, 1978; Cohen et coll., 1978). Une telle stabilité n'exclut cependant pas une stimulation du renouvellement des hépatocytes (Kistler et Weber, 1975). Ceci est suggéré à la fois par un marquage nucléaire plus important (Paik et Baserga, 1971), une élévation de l'activité spécifique de l'ADN (Atkinson, 1971; Atkinson et coll., 1972; Smith-Gill, 1979; Smith-Gill et coll., 1979; Smith-Gill et Carver, 1981), et par une augmentation de la fréquence des foyers de nécrose. Les hormones thyroïdiennes stimulent également dans les hépatocytes la synthèse d'ADN mitochondrial (Campbell et coll., 1969; Paik et Baserga, 1971; Atkinson et coll., 1972). De même, lors du traitement des larves par la T_4, l'incorporation de thymidine tritiée par les cellules souches de l'épithélium intestinal est révélée sur radioautogrammes, par la présence de grains d'argent dans les noyaux et, à un moindre degré, dans les mitochondries (Dauça, 1977; Dauça et Hourdry, 1977 [6]). Ainsi, pour la plupart des tissus de l'Amphibien, une phase de prolifération cellulaire précède toujours l'apparition des processus de différenciation.

2. Différenciation et Maturation.

Au niveau de l'épithélium intestinal, après prolifération des cellules souches, les cellules-filles engendrées entrent en différenciation structu-

rale. Le traitement des larves d'Anoures par la thyroxine exogène remplace l'épithélium intestinal initial, mais il conduit aussi très rapidement à l'apparition de 3 types cellulaires bien distincts dans l'épithélium néoformé : les épithéliocytes absorbants, les cellules muqueuses caliciformes et les cellules entéro-endocrines. D'un point de vue structural, rien ne distingue vraiment l'épithélium intestinal secondaire mis en place lors d'une métamorphose spontanée de cette même assise produite expérimentalement par l'action de la thyroxine exogène. Dans l'un et l'autre cas, la différenciation cellulaire conduisant à la formation d'épithéliocytes absorbants se manifeste en premier lieu par l'apparition de microvillosités apicales qui constitueront la future "bordure en brosse" de l'intestin. Au cours d'une métamorphose naturelle comme lors d'un traitement par la T_4, la différenciation des microvillosités est réalisée de façon semblable par la coopération fonctionnelle de filaments d'actine et de vésicules golgiennes. Des filaments disposés en paquets garnissent l'intérieur des ébauches de microvillosités tandis que la fusion de la membrane des vésicules golgiennes à la membrane plasmique apicale en assure l'élongation. Assez tardivement au cours de cette période de différenciation structurale naturelle ou induite, des microperoxysomes apparaissent par bourgeonnement du réticulum endoplasmique agranulaire. La différenciation fonctionnelle des épithéliocytes intestinaux absorbants passe par la synthèse de protéines spécialisées correspondant pour la plupart à des enzymes spécifiques.

a) Protéosynthèse.

En fin de métamorphose spontanée, les activités spécifiques de l'ensemble des hydrolases digestives augmentent dans l'intestin des individus juvéniles. La catalase des microperoxysomes intestinaux présente une activité accrue en fin de métamorphose. La protéosynthèse est stimulée par les hormones thyroïdiennes. Le traitement des larves d'Anoures par la thyroxine induit dans le nouvel épithélium intestinal la synthèse de plusieurs enzymes digestives. Sous l'action de cette hormone, les activités spécifiques de la phosphatase alcaline et de la γ-glutamyltransférase s'élèvent dans l'épithélium secondaire néoformé et dépassent les activités obtenues chez les témoins. La synthèse de novo de la phosphatase alcaline est confirmée par les observations cytochimiques. Chez les juvéniles nouvellement métamorphosés, l'activité de cette enzyme est présente dans les saccules et vésicules golgiens des épithéliocytes secondaires. Cette glycoprotéine est

ensuite véhiculée dans les vésicules golgiennes jusqu'à la membrane de la "bordure en brosse" (Hourdry et Hugon, 1979). Les mêmes résultats sont obtenus dans les épithéliocytes intestinaux secondaires en voie de différenciation, lors du traitement par la thyroxine (Dauça et coll., 1980a [9]).

La quantité totale des protéines hépatiques augmente au cours de la métamorphose naturelle ou induite (Smith-Gill et Carver, 1981). La synthèse protéique est également fortement accélérée dans les hépatocytes. Parmi les protéines intéressées citons la sérum albumine (Ledford et Frieden, 1973), certaines enzymes du cycle de l'ornithine-urée dont la carbamyl phosphate synthétase et l'arginine synthétase, ou du catabolisme respiratoire telle la cytochrome oxydase (Munro, 1953; Dolphin et Frieden, 1955; Brown et coll., 1959; Cohen, 1970; Frieden et Just, 1970; Balinsky et coll., 1972; Wixom et coll., 1972) ainsi que la catalase des peroxysomes (Dauça et coll., article 14). De même, le remplacement des érythrocytes larvaires par une nouvelle population s'accompagne de l'apparition d'une hémoglobine qui se distingue de l'ancienne par des différences au niveau des chaînes polypeptidiques (Broyles, 1981).

La protéosynthèse n'engendre pas uniquement des enzymes responsables de la différenciation fonctionnelle, elle produit également des hydrolases qui provoquent la dégénérescence de certaines structures larvaires. Les activités spécifiques des hydrolases lysosomales (phosphatase acide, N-acétyl-β-glucosaminidase, β-glucuronidase, cathepsine, aryl-sulfatase, thiolacétate estérase) augmentent dans l'épithélium intestinal primaire (Hourdry, 1972a). L'exposition des larves d'Anoures à la thyroxine conduit pour ce tissu larvaire au même résultat. Les activités de ces enzymes peuvent être également visualisées dans les cellules qui dégénèrent, au niveau de la chorde, de la moelle épinière et de l'épiderme. Il a par ailleurs été montré que le traitement par les hormones thyroïdiennes entraîne dans les fibroblastes de la queue une forte élévation des activités spécifiques des hydrolases lysosomales, en relation avec l'acquisition d'une capacité phagocytaire par ces cellules (pour revue voir Atkinson, 1981).

La stimulation de la protéosynthèse est souvent reflétée dans un premier temps par une incorporation accrue d'acides aminés radioactifs (Robinson et coll., 1972). La dégénérescence de l'épithélium intestinal larvaire libère de nombreux acides aminés dont une partie est probablement recyclée par les épithéliocytes secondaires. Dans cette hypothèse, certaines enzymes de la "bordure en brosse" dont la γ-glutamyltransférase pourraient inter-

venir dans l'absorption et le transport intramembranaire des acides aminés. Cette absorption est sélective, certains acides aminés étant préférentiellement récupérés. L'intestin comme les branchies et les tissus de la queue prélèvent essentiellement de la leucine (Tonoue et Frieden, 1970), tandis que le foie incorpore surtout de l'alanine et de la glycine (Kistler et coll., 1975b). Les hormones thyroïdiennes augmentent aussi la quantité des acides aminés qui s'associent aux ARNt (Unsworth et Cohen, 1968; De Witt, 1971). Il faut cependant souligner que la protéosynthèse déclenchée dans l'intestin par l'action de la seule thyroxine est loin d'être aussi importante que celle observée lors du développement naturel des larves d'Anoures. Au niveau de l'épithélium intestinal, les activités spécifiques de certaines enzymes digestives (maltase, glucoamylase, tréhalase et leucyl-naphthylamidase) ne sont pas complètement régénérées dans l'épithélium secondaire néoformé au cours du traitement par la thyroxine, contrairement à ce qui se produit lors d'une métamorphose spontanée. La thyroxine n'est pas capable à elle seule d'assurer une maturation complète des épithéliocytes secondaires. L'action synergique d'autres hormones est vraisemblablement requise dans les conditions naturelles. L'intervention de glucocorticoïdes semble très probable, dans la mesure où ces hormones contrôlent chez les Vertébrés supérieurs, de concert avec la T_3 et la T_4, la maturation fonctionnelle des entérocytes. D'autre part, chez les larves d'Anoures la concentration plasmatique de la corticostérone augmente au climax de la métamorphose naturelle, alors qu'elle ne s'élève pratiquement pas au cours du traitement par la T_3 (Jaffe, 1981).

b) Synthèses d'ARN.

Les hormones thyroïdiennes contrôlent la protéosynthèse en agissant au niveau des mécanismes génétiques nucléaires (Tata, 1971; Cohen et coll., 1978; Mori et coll., 1979). Cette action s'exerce à partir de l'ADN, au moment de la transcription des divers ARN (ARNm, ARNr et ARNt). Elle s'effectue également lors de la traduction des ARNm en protéines spécialisées intervenant dans la différenciation ou la dégénérescence cellulaire. La réalité de cette action a été initialement démontrée par l'utilisation d'antibiotiques inhibiteurs de la transcription des ARN (actinomycine D,..) ou de la traduction des ARNm (puromycine,...), puisqu'en leur présence la T_3 et la T_4 sont incapables d'induire les évènements d'une métamorphose. Les hormones thyroïdiennes agissent précocement sur les gènes. Certains sont

activés et permettent ainsi une transcription accélérée des ARN dans les cellules-cibles, d'autres gènes jusqu'alors fonctionnels sont réprimés. Selon Cohen (1970), les hormones thyroïdiennes ne modifient pas l'efficacité de l'ADN à transcrire les ARN, mais agissent plutôt sur la fraction protéique de la chromatine, en particulier sur les histones qui exercent un effet inhibiteur de la transcription. Les hormones thyroïdiennes contrôleraient l'activité des gènes en modifiant la distribution des histones à l'intérieur des noyaux. Via le génôme, ces hormones activent la transcription des ARN. Elles provoquent dans les hépatocytes un accroissement des activités ARN-polymérasiques nucléaires (Tata, 1971; Griswold et Cohen, 1972; Cchen et coll., 1978). Le traitement par la T_3 ou la T_4 accélère la pénétration des ribonucléotides et leur biosynthèse dans le cytoplasme des cellules-cibles (Eaton et Frieden, 1968; Bollin et coll., 1973; Ryffel et Weber, 1973). Les hormones thyroïdiennes stimulent la transcription des ARN dans le foie, la queue et le cerveau (Finamore et Frieden, 1960; Nakagawa et coll., 1967; Eaton et Frieden, 1968; Cohen, 1970; Stadler et Weber, 1970; Griswold et Cohen, 1972; Ryffel et Weber, 1973; Tata, 1974; Kistler et Weber, 1975; Hagenbuchle et coll., 1976). La transcription des ARN ribosomaux est préférentiellement activée dans certaines cellules dont les hépatocytes, les nouveaux érythrocytes et les neurones cérébraux (McMahon et De Witt, 1968; Wyatt et Tata, 1968; Cohen, 1970; Griswold et Cohen, 1972; Ryffel et Weber, 1973; Tata, 1974). Cette synthèse est suivie d'un passage des ARN r dans le cytoplasme, par contre les hormones thyroïdiennes stimulent plus faiblement la synthèse des ARN messagers et de transfert (Kim et Cohen, 1966; Wyatt et Tata, 1968; Cohen, 1970; Frieden et Just, 1970; Griswold et Cohen, 1972; Tata, 1974; Dhanarajan et Atkinson, 1981).

COMPARAISON DES EFFETS PRODUITS PAR LES METAMORPHOSES SPONTANEE ET INDUITE.

La diversité des effets produits par l'action des hormones thyroïdiennes sur les larves d'Anoures pose la question de savoir si le traitement hormonal induit ou non les mêmes changements que ceux observés au cours d'une métamorphose spontanée. En fait, l'injection intrapéritonéale de T_4 dans les têtards ou l'immersion des larves dans une solution thyroxinée ne reproduit jamais exactement la métamorphose normale. Ainsi l'évolution du rapport protéines/ADN analysée dans l'intestin au cours d'une métamorphose naturelle est différente de celle obtenue lors d'une métamorphose induite.

Il en est de même pour la régénération du potentiel enzymatique de la "bordure en brosse" des épithéliocytes intestinaux secondaires néoformés, et pour l'activité catalasique de leurs microperoxysomes. Si le traitement par la thyroxine engendre dans le pancréas larvaire une perte de poids aussi importante que celle observée dans cet organe au cours de la métamorphose normale, un certain nombre de changements enzymatiques évidents lors du développement naturel ne sont pas induits (Kim et Slickers, 1971; Atkinson et Little, 1972). Le rapport de la longueur du membre postérieur à la longueur de la queue, les remaniements ultrastructuraux affectant les hépatocytes ainsi que les activités spécifiques des enzymes du cycle de l'uréogenèse présentent des évolutions différentes dans le temps, selon qu'ils sont considérés lors d'un développement naturel ou induit (Cohen et coll., 1978). D'une façon générale, le traitement par la thyroxine est incapable de reproduire fidèlement la séquence des évènements se déroulant lors d'une métamorphose naturelle. Au cours du développement post-embryonnaire spontané, les transformations se distinguent les unes des autres aussi bien par leurs caractères spécifiques que par le moment où ces changements se produisent. La coordination des transformations dans le temps est l'un des caractères essentiels de la métamorphose naturelle des Amphibiens. Les différences de toutes sortes constatées entre métamorphose naturelle et induite peuvent s'expliquer en partie par le fait que l'administration de la T_4 (ou de la T_3) n'engendre pas la production des hormones ou d'autres facteurs indispensables aux processus de différenciation. Il est à ce propos important de rappeler que l'objectif envisagé au cours du traitement des larves d'Anoures par la thyroxine n'est pas de reproduire une métamorphose naturelle dans tous ses détails, mais plutôt de définir et d'approfondir les mécanismes d'action de cette hormone sur l'expression génétique de ces Vertébrés.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La soudaineté et l'importance du remplacement de l'épithélium intestinal, ainsi que le jeûne des larves d'Anoures durant les évènements de la métamorphose donnent l'impression d'une discontinuité, voire même d'une rupture, dans le développement post-embryonnaire du tissu. Cependant, le caractère spectaculaire des remaniements histologiques ne doit pas nous faire oublier que les cellules souches du futur épithélium adulte coexistent avec l'assise épithéliale larvaire pendant toute la vie de celle-ci. A ce propos, on ne peut s'empêcher d'être émerveillé par la dualité de structure de l'épithélium intestinal des têtards d'Anoures, dualité structurale sur laquelle repose précisément la métamorphose du tissu.

L'apparition des cellules souches sous les épithéliocytes intestinaux primaires est précoce. Localisées plus particulièrement dans la région du point de rebroussement ou réparties uniformément, ces cellules sont présentes dès les premiers stades de la vie post-embryonnaire. En effet, le traitement des larves prises aux stades I-V par la thyroxine exogène déclenche la substitution épithéliale. L'origine de ces cellules souches n'est pas connue. Il est possible qu'elles correspondent à des cellules endodermiques qui sont restées indifférenciées lors de la formation des épithéliocytes primaires. Cette hypothèse reste à vérifier non seulement par une recherche de ces cellules au cours du développement embryonnaire de l'intestin, mais également en déterminant le moment à partir duquel ces cellules deviennent compétentes, c'est-à-dire capables de donner naissance aux épithéliocytes secondaires.

La remarquable coexistence des formations "larvaires" et "adultes" s'accompagne d'une extraordinaire indépendance de leurs comportements et de leurs destinées. Leurs programmes de développement sont tout à fait différents. Les cellules souches demeurent quiescentes pendant toute la prémétamorphose. Ainsi ne participent-elles pas à la croissance de l'épithélium larvaire qu'assurent simplement les divisions des épithéliocytes primaires différenciés. Le "réveil" des cellules souches commence en fin de prométamorphose et surtout au début du climax. Au cours de ces périodes, les cellules souches prolifèrent alors que les épithéliocytes larvaires dégénèrent.

L'existence presque simultanée des processus de lyse et de genèse suppose que les cellules souches comme leurs cellules-filles disposent d'une protection contre les agents responsables de la dégénérescence des épithéliocytes primaires. L'existence d'un revêtement superficiel protecteur est

possible d'autant que la substitution de l'épithélium intestinal entraîne un profond changement des jonctions et des contacts membranaires impliqués dans la cohésion des cellules souches et des épithéliocytes primaires. Cette cohésion, assurée par la présence de desmosomes et d'intrications membranaires, est étroite avant métamorphose. Au contraire, dès que les cellules souches ont entrepris plusieurs cycles mitotiques, les contacts membranaires se distendent. La perte de cohésion s'amplifie dès que les cellules issues de la prolifération des cellules souches amorcent leur différenciation. La première manifestation de la différenciation des futurs épithéliocytes secondaires correspond peut-être à l'apparition à la surface de leurs membranes plasmiques d'une nouvelle espèce moléculaire impliquée dans leur reconnaissance. Une étude plus approfondie des molécules jouant un rôle dans la reconnaissance et dans l'adhésivité cellulaires, réalisée à partir de chacune des deux populations épithéliales de l'intestin des Anoures, devrait nous indiquer si la même espèce moléculaire persiste au cours du développement post-embryonnaire du tissu, ou si au contraire la substitution épithéliale s'accompagne de l'apparition d'un nouveau "ligand".

Au cours du développement des Amphibiens comme de tous Vertébrés, la morphologie et l'organistaion générale des tissus reposent sur un équilibre dynamique entre les processus de lyse et de genèse cellulaires. Les cellules néoformées se différencient, meurent et sont remplacées. Loin d'interrompre cette séquence classique, la métamorphose, au contraire, l'accélère fortement. Les transformations subies par l'épithélium intestinal des larves d'Anoures, au climax, en sont un exemple particulièrement démonstratif. La population des épithéliocytes primaires vieillit prématurément, par contre, celle des cellules souches manifeste brutalement une intense activité mitotique. La fréquence des figures de mitose, l'incorporation de thymidine tritiée et l'activité spécifique de l'ADN augmentent fortement dans les cellules souches. Véritables foyers de prolifération, les"nids"des cellules souches représentent une forme primitive de crypte intestinale. Par ailleurs, la préparation et le déroulement des évènements de la métamorphose sont contemporains d'une activité mitotique plus ou moins intense dans de nombreux organes des larves. Ces processus histogénétiques sont soit limités et facultatifs (ex : hépatocytes) ou généralisés et obligatoires (ex : cellules souches de l'épithélium secondaire). Leur déclenchement coïncide avec l'installation de fortes concentrations des hormones thyroïdiennes dans le plasma des larves d'Anoures. Nous avons montré que lorsqu'on élève artificiellement le taux de la thyroxine circulant dans le milieu intérieur des têtards,

l'épithélium intestinal primaire dégénère et une autre assise le remplace. La thyroxine, et d'une façon plus générale, les hormones thyroïdiennes jouent un rôle primordial dans le remodelage de l'intestin. La réponse spécifique et différente des épithéliocytes intestinaux primaires et des cellules souches, s'accorde avec une action de la thyroxine au niveau génétique.

L'originalité de la métamorphose des Amphibiens Anoures réside moins dans l'impact qu'elle exerce sur la durée de vie de tel ou tel tissu que dans le fait qu'elle est marquée par l'apparition de nouveaux types cellulaires qui diffèrent des populations initiales qu'elles remplacent, par de nombreux caractères structuraux et moléculaires. La comparaison de l'épithélium intestinal de la larve et de l'épithélium secondaire du juvénile ou de l'adulte en fournit une démonstration. La métamorphose modifie profondément la morphologie du tissu en donnant naissance à des villosités. Elle conserve apparemment les trois principaux types cellulaires (cellules muqueuses, cellules entéro-endocrines et épithéliocytes absorbants) déjà présents dans l'épithélium intestinal larvaire. Cependant, elle augmente sensiblement la fréquence des cellules endocrines dans l'épithélium secondaire . Il n'est pas impossible par ailleurs que la métamorphose de l'épithélium intestinal s'accompagne aussi d'une diversification des cellules endocrines. Des analyses cytochimiques et immunologiques appliquées à ces cellules devraient nous renseigner sur ce point. Nos recherches sur les épithéliocytes absorbants ont montré aussi que le développement post-embryonnaire s'y traduit par des modifications qualitatives et quantitatives des constituants macromoléculaires de leur"bordure en brosse". D'autre part, chaque fois que l'écologie de l'amphibien change à l'issue de la métamorphose, la fréquence, la taille et l'activité catalasique des microperoxysomes sont profondément modifiées à l'occasion de la substitution de l'épithélium intestinal. Les mêmes changements se produisent pour les peroxysomes du foie et du rein, au cours des remaniements subis par ces deux organes. Outre le caractère spectaculaire des changements présentés par l'ontogenèse des peroxysomes hépatiques et rénaux et des microperoxysomes intestinaux, et d'autre part par leur activité catalasique, le parallèle qui existe entre le comportement de ces structures et celui des mitochondries n'est pas moins évident. Un couplage dans l'activité de ces deux types d'organites existe au cours de la métamorphose. Il est reflété par l'élévation progressive du rapport entre leurs fréquences, par leur proximité et les contacts qu'ils établissent ainsi que par la synchronisation de leurs activités. Les transformations morphologiques, histologiques et biochimiques qui affectent le tractus

digestif, et tout particulièrement l'intestin des larves d'Anoures au climax de la métamorphose, sont un prélude indispensable au changement à la fois de leur régime alimentaire et de leur habitat. L'individu dont l'épithélium intestinal primaire a dégénéré ne pourra à nouveau s'alimenter qu'après remplacement de cette assise épithéliale, via la prolifération et la différenciation des cellules souches. D'autre part, la mise en place d'un épithélium intestinal secondaire qui diffère par plusieurs caractères de l'épithélium larvaire, constitue vraisemblablement un élément important dans l'adaptation de ces Tétrapodes au biotope terrestre et dans leur dissémination, en leur permettant de se nourrir à partir de nouvelles sources alimentaires.

La métamorphose induite artificiellement par la thyroxine exogène montre que cette hormone thyroïdienne agit efficacement dans la différenciation structurale de la "bordure en brosse" des épithéliocytes intestinaux secondaires, et, à plus long terme dans la genèse de leurs microperoxysomes. Au niveau moléculaire, cette hormone n'induit cependant qu'une maturation enzymatique partielle. Si les activités de la catalase hépatique et rénale s'élèvent lors d'une métamorphose induite, les enzymes digestives par contre ne sont pas totalement régénérées à la surface de la nouvelle "bordure en brosse" intestinale. Une action synergique des hormones thyroïdiennes avec d'autres facteurs, comme les hormones du tissu interrénal, a été suggérée. Cette hypothèse doit être vérifiée in vivo et in vitro par action sur l'épithélium intestinal larvaire de glucocorticoïdes notamment, associés ou non à l'une des hormones thyroïdiennes.

Nos recherches mettent également en évidence un certain nombre de similitudes entre le développement des Amphibiens et celui des Vertébrés supérieurs. Il est classiquement connu que l'ontogenèse des Oiseaux comme celle des Mammifères est marquée par des modifications profondes de la structure et des propriétés de leur hémoglobine, transformations qui rappellent tout à fait les changements subis par l'hémoglobine des Amphibiens au cours de leur développement post-embryonnaire. Après métamorphose, éclosion ou naissance, l'hémoglobine adulte possède toujours une affinité plus faible pour l'oxygène. Nous avons nous-mêmes montré que la phosphatase alcaline intestinale des Anoures est remplacée par une espèce moléculaire de type "adulte" à l'occasion de la substitution épithéliale, tout comme cette même enzyme est remplacée dans l'intestin des Mammifères au moment de leur naissance. Chez les Amphibiens comme chez les Mammifères, la phosphatase alcaline intestinale adulte a toujours une masse moléculaire plus

élevée que celle larvaire ou foetale. D'autre part, les ontogenèses des microperoxysomes intestinaux ou des peroxysomes hépatiques et rénaux des Amphibiens, des Oiseaux et des Mammifères présentent plusieurs points communs. La fréquence, la taille et l'activité catalasique de ces organites cytoplasmiques augmentent au cours du développement de ces Tétrapodes et plus précisément dans la période qui précède et qui suit leur changement d'habitat. Il est ainsi possible de reconnaître divers vestiges de "métamorphoses" structurales et moléculaires au cours du développement des Amniotes. De ce fait, la notion de métamorphose ne doit pas être réservée aux Poissons et aux Amphibiens mais elle peut être envisagée également pour les Vertébrés supérieurs. Selon des schémas variés et avec des intensités différentes, la métamorphose de l'épithélium intestinal constitue un phénomène général, commun à l'ensemble des Vertébrés.

RESUME

L'intestin des Amphibiens Anoures subit des transformations spectaculaires au paroxysme ou climax de la métamorphose. Cet organe long, volumineux et spiralé chez les larves devient court et sub-rectiligne chez les individus juvéniles. Ces transformations morphologiques sont la conséquence de profonds remaniements histologiques. L'épithélium intestinal larvaire ou primaire dégénère complètement sous l'action d'hydrolases lysosomales. Il est remplacé par une assise secondaire de néoformation, futur épithélium villeux de l'adulte.

L'étude de la mise en place et de la différenciation structurale et fonctionnelle de l'épithélium intestinal secondaire fait l'objet de ce travail.

* Le développement de ce tissu est assuré par la prolifération de cellules souches présentes sous l'épithélium intestinal primaire. Nous nous sommes intéressés aux phénomènes histogénétiques qui affectent ces cellules lors de la métamorphose naturelle. Nous avons également recherché les conséquences sur la prolifération des cellules souches, de l'action séparée et conjuguée de la thyroxine et des rayons X.

* La substitution de l'épithélium intestinal coïncide pour la plupart des Anoures avec un changement d'habitat et de régime alimentaire. La larve aquatique est herbivore ou planctivore alors que le juvénile comme l'adulte sont des individus terrestres et carnivores. Dans ces conditions, nous avons cherché à savoir s'il existe des différences structurales et biochimiques entre les épithéliocytes intestinaux primaires et secondaires. Notre recherche conduite lors de la métamorphose spontanée ou induite par la thyroxine exogène a porté d'une part sur les hydrolases digestives de la bordure en "brosse intestinale", et d'autre part sur les microperoxysomes intestinaux et l'activité de la catalase qu'ils renferment.

I - Prolifération des cellules souches de l'épithélium intestinal.

A. Phénomènes histogénétiques naturels.

Avant la métamorphose, les cellules souches sont rares et difficilement reconnaissables car elles sont isolées et dispersées sous l'épithélium intestinal larvaire. Le caractère embryonnaire de ces cellules basales est con-

firmé par leur rapport nucléoplasmique élevé et par la présence de nombreux ribosomes dans la mince frange cytoplasmique. Le repérage des cellules souches devient plus facile dès que les évènements de la métamorphose sont déclenchés. Par mitoses successives, elles engendrent des îlots cellulaires séparés puis jointifs qui donnent naissance à une assise continue. La séquence de ces évènement a été décrite. L'importance relative des épithéliocytes intestinaux primaires et secondaires, ainsi que les variations des surfaces des diverses assises composant la paroi intestinale ont été appréciées au cours du développement post-embryonnaire naturel. Dans les mêmes conditions, une analyse radioautographique qualitative et quantitative avec mesure de l'indice de marquage, a été réalisée chez les larves d'Anoures, après injection de thymidine tritiée. L'indice de marquage nucléaire culmine au climax dans l'épithélium secondaire en relation avec sa mise en place rapide. L'étude biochimique de l'activité spécifique de l'ADN intestinal confirme les résultats radioautographiques et montre l'existence d'un pic au paroxysme de la métamorphose naturelle.

B. Induction des phénomènes histogénétiques par la thyroxine.

Le traitement de larves d'Anoures par la thyroxine exogène entraîne après une latence, une diminution constante du poids et de la longueur de l'intestin ainsi que des rapports : poids de l'intestin/poids de l'animal, et longueur de l'intestin/longueur du corps de la larve traitée. L'épithélium intestinal possède une compétence très précoce vis-à-vis de la thyroxine et sa réponse est spécifique. Après une latence de trois jours chez Discoglossus pictus et de sept jours chez Alytes obstetricans, l'hormone induit chez les larves prises en prémétamorphose, une multiplication active des cellules embryonnaires basales de l'épithélium intestinal. L'indice de marquage des noyaux secondaires passe par un maximum après un traitement hormonal de quatre jours chez le Discoglosse et de neuf jours chez l'Alyte. L'activité spécifique de l'ADN intestinal culmine également à neuf jours chez l'Alyte, au moment où les épithéliocytes secondaires prolifèrent et où la zone extraépithéliale s'épaissit.

C. Effets conjugués de la thyroxine et des rayons X sur la prolifération des cellules souches.

Chez les animaux simplement irradiés, la plupart des cellules souches de l'épithélium secondaire montrent des signes de nécrose. Chez les larves irradiées puis traitées par la thyroxine, les cellules embryonnaires proli-

fèrent beaucoup plus lentement et ne forment pas d'îlots secondaires. L'indice de marquage de leur noyau est sensiblement plus faible que celui constaté chez les témoins non irradiés soumis à la thyroxine. Contrairement à ce que l'on observe chez les larves seulement traitées par l'hormone, une partie des débris cellulaires est éliminée par des cellules phagocytaires qui s'infiltrent dans l'épithélium. Chez les animaux traités par la thyroxine avant d'être irradiés, des îlots d'épithéliocytes secondaires se développent mais certaines de ces cellules présentent des caractères d'autolyse. Là encore, des phagocytes sont remarqués dans le tissu conjonctif et dans l'épithélium.

II - Différenciation des épithéliocytes intestinaux absorbants.

La différenciation des cellules issues de la prolifération des cellules souches, conduit à l'apparition de trois catégories d'épithéliocytes intestinaux secondaires : les cellules muqueuses caliciformes, les cellules entéro-endocrines et les épithéliocytes absorbants. Ces derniers constituent la population cellulaire la plus importante. Nous avons étudié la différenciation structurale et fonctionnelle de leur "bordure en brosse" et de leurs microperoxysomes.

A. "Bordure en brosse" intestinale et enzymes digestives.

1. Formation de la "bordure en brosse" intestinale.

La croissance et la prolifération des microvillosités apicales sont les premières manifestations de la différenciation structurale des épithéliocytes absorbants secondaires. Que ce soit au cours d'une métamorphose spontanée ou induite artificiellement par la thyroxine exogène, la différenciation des microvillosités se réalise de façon semblable par la coopération fonctionnelle de vésicules golgiennes et de filaments d'actine. Des vésicules golgiennes s'accumulent sous la cytomembrane apicale, confluent et entrent en contact avec la membrane plasmique. De leur fusion naissent les microvillosités. Simultanément des paquets de filaments les envahissent et constituent leur squelette. En fin de métamorphose naturelle ou induite, la "bordure en brosse" intestinale est complètement restaurée. L'acquisition par cette "bordure en brosse" des enzymes responsables des fonctions de digestion et d'absorption représente l'étape finale de la maturation fonctionnelle des épithéliocytes absorbants.

2. Variations des activités enzymatiques de la "bordure en brosse".

Les activités de plusieurs enzymes responsables de l'hydrolyse des aliments (glucidases, phosphatase alcaline, γ-glutamyltransférase) s'élèvent significativement dans l'intestin antérieur des juvéniles venant d'achever leur métamorphose naturelle et dont les épithéliocytes secondaires sont en place. Par ailleurs, le traitement des larves d'Anoures par la thyroxine déclenche la métamorphose et assure la substitution complète d'un épithélium secondaire à l'épithélium intestinal initial. Or, contrairement à ce que l'on observe en métamorphose spontanée, les activités des glucidases (maltase, glucoamylase et tréhalase) et de la leucyl-naphthylamidase s'abaissent, et, seules les activités de la phosphatase alcaline et de la γ-glutamyltransférase s'élèvent. Une telle contradiction suggère des modifications endocriniennes beaucoup plus amples lors de la métamorphose naturelle, avec participation non seulement des hormones thyroïdiennes mais aussi d'autres facteurs.

3. Evolution qualitative des constituants moléculaires de la "bordure en brosse".

L'isolement et la purification de la "bordure en brosse" intestinale, effectués chez Rana catesbeiana à divers stades de son développement naturel multiplient par 10 ou 15 les activités spécifiques des hydrolases digestives qui y sont localisées. Les préparations enrichies en fragments de "bordure en brosse" ont été observées au microscope électronique, après coloration négative. Des particules élémentaires, sites enzymatiques possibles, sont repérées à la surface des vésicules issues des fragments de "bordure en brosse". L'activité de la γ-glutamyltransférase déterminée à partir des membranes purifiées est 4 fois plus élevée chez l'adulte que chez la larve. Compte-tenu de l'hydrolyse de plusieurs peptides que provoque cette enzyme et de sa participation éventuelle au mécanisme d'absorption des acides aminés, cette augmentation est parfaitement compatible avec le passage au régime carnivore et insectivore survenant à la métamorphose. Par contre, les activités des autres hydrolases varient peu lorsque l'on compare la larve à l'adulte.

Les protéines insérées sur la membrane de la "bordure en brosse" intestinale ont été dissociées de leur support par action ménagée du docécyl sul-

fate de sodium (SDS) et discriminées par électrophorèse sur gel d'acrylamide en tampon discontinu. Après coloration par le Bleu de Coomassie, les électrophorégrammes concernant les protéines diffèrent lorsque l'on passe des larves aux juvéniles puis aux adultes. La masse moléculaire de chacune de ces protéines a été déterminée par comparaison avec des protéines de masses moléculaires connues. La répartition et le nombre des glycoprotéines ont été précisés chez les larves, les juvéniles et les adultes, par coloration des gels au moyen du réactif de Schiff. Les glycoprotéines détectées coïncident avec les bandes protéiques de masses moléculaires élevées. La nature enzymatique de certaines bandes a été démontrée. Trois enzymes ou leurs complexes (glucoamylase, maltase et phosphatase alcaline)ont été caractérisés. Deux complexes maltase/glucoamylase apparaissent systématiquement, quel que soit le stade ontogénique considéré. La phosphatase alcaline montre une mobilité électrophorétique plus grande avant métamorphose qu'après. Sa masse moléculaire est de l'ordre de 150.000 daltons chez la larve et de 170.000 daltons chez le juvénile ou l'adulte. Cette enzyme est d'autre part plus sensible à l'action dénaturante du détergent chez la larve que chez l'adulte. De tels changements pour la phosphatase alcaline intestinale des Amphibiens au moment de la métamorphose ne sont pas sans rappeler la transition brutale subit par la phosphatase alcaline intestinale des Mammifères lors de leur naissance. La migration électrophorétique de la maltase et de la glucoamylase change aussi au cours du développement post-embryonnaire des Amphibiens. Les activités de ces deux enzymes sont associées à deux mêmes bandes glycoprotéiques dont les masses moléculaires augmentent au cours du passage du stade larvaire au stade adulte. La tréhalase et la γ-glutamyltransférase étant dénaturées par l'action du SDS et leurs activités n'étant pas conservées sur les électrophorégrammes, l'effet dénaturant de ce détergent sur chacune des enzymes de la "bordure en brosse" a été recherché, compte-tenu de sa concentration et de la durée du traitement par le détergent. Le SDS à la concentration finale de 1 % dénature totalement la tréhalase et la γ-glutamyltransférase en moins de 10 minutes. La phosphatase alcaline perd également une partie de son activité. Par contre, la maltase et la glucoamylase ne sont pas affectées.

Les microperoxysomes constituent également d'excellents marqueurs du degré de maturation fonctionnelle des épithéliocytes intestinaux absorbants.

B. Microperoxysomes - Peroxysomes - Catalase.

1. Ontogenèses des microperoxysomes intestinaux.

Chez Alytes obstetricans et Rana catesbeiana, l'acquisition de la différenciation structurale et de la spécialisation fonctionnelle des épithéliocytes intestinaux secondaires est marquée par une augmentation spectaculaire de la fréquence des microperoxysomes. Ces organites révélés cytochimiquement par leur activité catalasique, sont le plus souvent circulaires ou ovoïdes, plus rarement allongés et montrent parfois une communication avec le réticulum endoplasmique lisse dont ils sont originaires. Ces structures catalase-positives sont préférentiellement localisées dans la région supra-nucléaire, à proximité des mitochondries. Peu nombreux dans l'épithélium intestinal primaire de la larve, les microperoxysomes deviennent par contre très fréquents et plus volumineux dans les épithéliocytes secondaires de juvéniles, au terme de la phase de prolifération. Une relation entre le passage de l'animal au milieu terrestre et la grande fréquence des peroxysomes est très possible. Chez Xenopus laevis, espèce dont le développement se passe entièrement en milieu aquatique, la fréquence des peroxysomes est sensiblement la même dans les épithéliocytes intestinaux primaires et secondaires.

L'ontogenèse des microperoxysomes intestinaux a été également analysée chez Rana catesbeiana au cours de la métamorphose induite par la thyroxine. Après un traitement hormonal de 12 jours, l'épithélium intestinal secondaire achève de se mettre en place. Les microperoxysomes sont encore rares alors que la "bordure en brosse" est complètement différenciée. L'étude cytochimique ne révèle la présence des premières structures catalase-positives dans ce tissu que 20 jours après le début du traitement. Les microperoxysomes apparaissent préférentiellement à la base des épithéliocytes secondaires et à proximité des réseaux réticulaires avec lesquels ils sont souvent en continuité.

2. Evolutions de l'activité catalasique intestinale.

A tous les stades du développement naturel des larves d'Anoures, l'activité de la catalase intestinale est distribuée selon un gradient décroissant de la région pylorique à la région rectale. Après une baisse de cette activité au climax de la métamorphose spontanée de Rana catesbeiana, l'activité spécifique de la catalase intestinale augmente fortement chez les individus juvéniles sortis de l'eau depuis plusieurs semaines et atteint

des valeurs encore plus élevées chez l'adulte. Chez Xenopus laevis, par contre, la substitution de l'épithélium intestinal n'est pas accompagnée d'une augmentation sensible du niveau de l'activité catalasique.

Le traitement des larves de Rana catesbeiana par la thyroxine engendre une diminution de l'activité spécifique de la catalase intestinale. Après 3 jours de traitement, l'intestin a perdu 1/3 de son activité catalasique. Par la suite et jusqu'au 20ème jour de traitement, l'activité catalasique reste faible dans l'intestin.

3. Généralisation.

Afin de savoir si les augmentations constatées dans la fréquence et l'activité catalasique des microperoxysomes intestinaux lors du développement post-embryonnaire naturel des larves de Rana catesbeiana sont ou non généralisables à d'autres organes, nous avons entrepris chez cette espèce des études analogues au niveau du rein (Mésonéphros) et du foie. Dans chacun de ces organes, la fréquence et la taille des peroxysomes ainsi que l'activité de leur catalase s'élèvent après la métamorphose. De telles modifications ne sont pas observées dans le foie et le rein des larves de Xenopus laevis au cours de leur développement spontané.

Les variations de l'activité spécifique de la catalase hépatique et rénale ont été aussi recherchées chez des larves de Rana catesbeiana traitées par la thyroxine. Une augmentation faible mais significative de l'activité spécifique de la catalase hépatique est constatée chez les larves immergées depuis 3 jours dans la solution thyroxinée. Entre 9 et 12 jours de traitement, une élévation beaucoup plus forte se produit. Au-delà de 2 semaines, l'activité de la catalase hépatique se stabilise à un niveau 5 à 6 fois supérieur à celui des témoins. Jusqu'au 9ème jour de traitement hormonal, l'activité catalasique du rein des animaux thyroxinés évolue comme chez les témoins. Entre 9 et 15 jours de traitement, l'activité spécifique de la catalase augmente dans le rein des larves traitées, et à partir de 12 jours elle dépasse l'activité mesurée chez les témoins. Un traitement d'une durée supérieure à deux semaines, double l'activité spécifique de la catalase rénale.

* * *

Il ressort de ces résultats que la métamorphose des Amphibiens Anoures

est marquée au niveau de l'intestin par le complet remplacement de l'épithélium. La mise en place de l'épithélium intestinal secondaire est assurée par la prolifération de cellules souches. Plusieurs caractères structuraux et moléculaires distinguent cette nouvelle assise de l'épithélium intestinal larvaire : son aspect est villeux, la concentration enzymatique de la "bordure en brosse" est plus élevée, l'activité spécifique de la γ-glutamyltransférase est quadruplée, les enzymes digestives présentent des masses moléculaires plus importantes et une sensibilité au SDS plus faible. D'autre part, chez les espèces qui passent en milieu terrestre après la métamorphose, la fréquence, la taille et l'activité catalasique des peroxysomes augmentent fortement dans l'intestin et plus encore dans le rein et le foie, alors qu'elles ne changent pas dans dans ces organes au cours du développement post-embryonnaire de Xenopus laevis, espèce qui demeure en milieu aquatique.

Parmi les facteurs hormonaux qui contrôlent les transformations intestinales, la thyroxine occupe une place fondamentale. L'hormone thyroïdienne déclenche la prolifération des cellules souches intestinales. Elle assure la différenciation structurale des épithéliocytes secondaires absorbants par la mise en place d'une "bordure en brosse" et l'apparition plus tardive de peroxysomes. Elle induit l'apparition plus ou moins rapide de plusieurs espèces enzymatiques (phosphatase alcaline, γ-glutamyltransférase, catalase) mais ne régénère pas les glucidases (maltase, glucoamylase, tréhalase). Il est probable que dans les conditions d'une métamorphose naturelle, l'action de la thyroxine ou des hormones thyroïdiennes est renforcée ou potentialisée par celle d'autres facteurs humoraux. L'intervention des hormones du tissu interrénal a été suggérée.

Les transformations intestinales des Amphibiens Anoures constituent vraisemblablement un élément important dans l'adaptation de ces Tétrapodes à leur nouveau biotope et dans leur dissémination, en leur permettant de se nourrir à partir de nouvelles sources alimentaires.

BIBLIOGRAPHIE

ALLEN B.M., 1916. Extirpation experiments in Rana pipiens larvae. Science., 44, 755-757.

ALPERS D.H., 1972. The relation of size to the relative rates of degradation of intestinal brush border proteins. J. clin. Invest., 51, 2621-2630.

ANDREW W., 1963. Mucous secretion in cell nests and surface epithelium. Ann. New York Acad. Sci., 106, 502-517.

ANDRIES J.C., 1970. Etude de l'activité des nids de régénération au cours de la métamorphose de l'intestin moyen d'Aeshna cyanea Müll. (Insecte Odonate). Bull. Soc. zool., 95, 85-97.

ANDRIES J.C., 1972. Genèse intraépithéliale des microvillosités de l'épithélium mésentérique de la larve d'Aeshna cyanea. J. Micr., 15, 181-204.

ANDRIES J.C., 1975. Différenciation et mort cellulaires au cours de la métamorphose mésentérique de la larve d'Aeshna cyanea. J. Micr., 24, 327-350.

ANDRIES J.C., 1979. Junctional structures in the metamorphosing midgut of Aeshna cyanea (Insecta, Odonata). Cell Tissue Res., 202, 9-15.

ASHLEY H. et FRIEDEN E., 1972. Metabolism and distribution of triiodothyronine and thyroxine in the bullfrog tadpole. Gen. comp. Endocrinol., 18, 22-31.

ASSAN R., TCHOBROUTSKY G. et ROSSELIN G., 1969. Caractérisation radioimmunologique de glucagon dans les tissus digestifs de diverses espèces animales. Pathol. Biol., 17, 747-755.

ASTIER H.S. et NEWCOMER W.S., 1978. Extrathyroidal conversion of thyroxine to triiodothyronine in a bird : The peking duck. Gen. comp. Endocrinol., 35, 496-499.

ATKINSON B.G., 1971. Patterns of macromolecular biosynthesis during amphibian metamorphosis. Relationships of endocrines to growth and development. Proc. 7th Midwest. Conf. Endocrinol. Metabol., (Breitenbach R.P. et Kenny A.D., éds), pp 48-82, University of Missouri, Columbia.

ATKINSON B.G., 1981. Biological basis of tissue regression and synthesis. Dans : "Metamorphosis : A problem in developmental biology." (Gilbert L.I. et Frieden E., éds), pp. 397-444. Plenum Press, New York.

ATKINSON B.G., ATKINSON K.H., JUST J.J. et FRIEDEN E., 1972. DNA synthesis in Rana catesbeiana tadpole liver during spontaneous and triiodothyronine-induced metamorphosis. Developt. Biol., 29, 162-175.

ATKINSON B.G. et JUST J.J., 1975. Biochemical and histological changes in the respiratory system of Rana catesbeiana larvae during normal and induced metamorphosis. Developt Biol., 45, 151-165.

ATKINSON B.G. et LITTLE G.H., 1972. Growth and regression in tadpole pancreas during spontaneous and thyroid hormone-induced metamorphosis. I. Rates of macromolecular synthesis and degradation. Mech. ageing Dev., 1, 299-312.

BAFFONI G.M., 1957. Influenza dell'ormone tiroideo sull'attivita mitotica del rombencefalo di un Anfibio anuro. Atti Accad. nazion. Lincei R. C., 23, 495-503.

BALINSKY J.B., COETZER T.L. et MATTHEYSE F.J., 1972. The effect of thyroxine and hypertonic environment on the enzymes of the urea cycle in Xenopus laevis. Comp. Biochem. Physiol., 43B, 83-95.

BARRY D.G., 1952. Local action of thyroxin on metamorphosis of the amphibian gut. Dissert. Abstr., 12, 605.

BATAILLON E., 1891. Recherches anatomiques et expérimentales sur la métamorphose des amphibiens anoures. Ann. Univ. Lyon., 11, 1-123.

BEACH D.H. et JACOBSON M., 1979a. Patterns of cell proliferation in the retina of the clawed frog during development. J. comp. Neurol., 183, 603-614.

BEACH D.H. et JACOBSON M., 1979b. Influences of thyroxine on cell proliferation in the retina of the clawed frog at different ages. J. comp. Neurol., 183, 615-624.

BEAUMONT A., 1976. La dégénérescence partielle du pancréas larvaire des amphibiens anoures au cours de la métamorphose. Dans :"Mécanismes de la rudimentation des organes chez les embryons de Vertébrés." Colloques internationaux, C.N.R.S., Toulouse, n° 266, 113-124.

BEAUPAIN R., 1978. Effects of X-rays on DNA synthesis in developing and regressing Müllerian ducts of the chick embryo. Rad. Res., 75, 66-75.

BEEVERS H., 1969. Glyoxysomes of castor bean endosperm and their relation to gluconeogenesis. Ann. New York.Acad. Sci., 168, 313-324.

BENBASSAT J., 1970. Erythroid cell development during natural amphibian metamorphosis. Developt. Biol., 21, 557-583.

BENHAM F.J. et HARRIS H., 1979. Human cell lines expressing intestinal alkaline phosphatase. Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A., 76, 4016-4019.

BENNETT G., 1970. Migration of glycoprotein from Golgi apparatus to cell coat in the columnar cells of the duodenal epithelium. J. Cell Biol., 45, 668-673.

BENNETT G. et LEBLOND C.P., 1971. Passage of fucose-H^3 label from the Golgi apparatus into dense and multivesicular bodies in the duodenal columnar cells and hepatocytes of the rat. J. Cell Biol., 51, 875-881.

BENNETT T.P. et GLENN J.S., 1970. Fine structural changes in liver cells of Rana catesbeiana during natural metamorphosis. Developt. Biol., 22, 535-560.

BENNETT T.P., GLENN J.S. et SHELDON H., 1970. Changes in the fine structure of tadpole liver during thyroxine-induced metamorphosis. Developt. Biol., 22, 232-248.

BENSON R.L., SACKTOR B. et GREENAWALT J.W., 1971. Studies on the ultrastructural localization of intestinal disaccharidases. J. Cell Biol., 48, 711-716.

BERCHTOLD J.P., 1975a. Observations on peroxisomes in interrenal (adrenocortical) cells of Triturus cristatus and Salamandra salamandra (Urodele Amphibians). Cell Tissue Res., 162, 349-356.

BERCHTOLD J.P., 1975b. Cytophysiologie - Les peroxysomes des cellules interrénales de Triturus cristatus (Amphibien, Urodèle) : variation de leur nombre en fonction de l'activité stéroidogénique. C.R. Acad. Sci., Fr., série D, 281, 543-545.

BERG G.G., 1955. Inorganic polyphosphatase in the developing frog. J. cell. comp. Physiol., 45, 435-464.

BERG O., GORBMAN A. et KOBAYASHI H., 1959. The thyroid hormones in vertebrates and lower vertebrates. Dans : "Comparative Endocrinology." (Gorbman A., éd.), p. 302, Wiley, New York.

BERGER S.J. et SACKTOR B., 1970. Isolation and biochemical characterization of brush borders from rabbit kidney. J. Cell Biol., 47,637-645.

BERNIER J.J. et REY J., 1977. Physiologie de l'intestin grêle. Dans : "Physiologie humaine." (Meyer P., éd.), pp. 187-233, Flammarion, Paris.

BERTALANFFY F.D., 1960. Mitotic rates and renewal times of the digestive tract epithelia in the rat. Acta anat., 40, 130-148.

BERTELOOT A., BENNETTS R.W. et RAMASWAMY K., 1980. Transport characteristics of papain-treated brush border membrane vesicles. Non-involvement of γ-glutamyltransferase in leucine transport. Biochim. Biophys-Acta., 601, 592-604.

BILLINGTON T. et NAYUDU P.R.V., 1975. Studies on the brush border membrane of the mouse duodenum. I. Membrane isolation and analysis of protein components. J. Membrane Biol., 21, 49-64.

BLACK V.H. et BOGART B.I., 1973. Peroxisomes in inner adreno-cortical cells of fetal and adult guinea-pigs. J. Cell Biol., 57, 345-358.

BÖCK P., KRAMAR R. et PAVELKA M., 1980. Peroxisomes and related particles in animal tissues. (Alfert M., Beermann W., Franke W.W., Rudkin G. et Sitte P., éds), 7, 1-231, Springer-Verlag, New York .

BOLLIN E., CARLSON C.A. et KIM K.H., 1973. Anuran pancreas development during thyroxine-induced metamorphosis of Rana catesbeiana : RNA metabolism during the regressive phase of pancreas development. Developt. Biol., 31, 185-191.

BONNEVILLE M.A., 1963. Fine structural changes in the intestinal epithelium of the bullfrog during metamorphosis. J. Cell Biol., 18, 579-597.

BONNEVILLE M.A. et WEINSTOCK M., 1970. Brush border development in the intestinal absorptive cells of Xenopus during metamorphosis. J. Cell Biol., 44, 151-171.

BOTTE V. et BUONANNO C., 1962. Determinazione quantitativa delle fenilfosfatasi alcalina ed acida dell'intestino di Rana esculenta nel corso della metamorfosi in condizioni normali e sperimentali. Boll. Zool., 29, 471-478.

BOWERS M.A., 1909. Histogenesis and histolysis of the intestinal epithelium of Bufo lentiginosus. Amer. J. Anat., 9, 263-279.

BRAUN H., 1965. Beiträge zur Histologie und Zytologie des bestrahlten Thymus. III. Mitteilung : die Wirkung subletaler Dosen. Strahlentherapie., 126, 236-246.

BRAVERMAN L.E., INGBAR S.H. et STERLING K., 1970. Conversion of thyroxine (T_4) to triiodothyronine (T_3) in athyreotic human subjects. J. clin. Invest., 49, 855-864.

BREIDENBACH R.W. et BEEVERS H., 1967. Association of the glyoxylate cycle enzymes in a novel subcellular particle from castor bean endosperm. Biochem. biophys. Res. Communic., 27, 462-469.

BROWN A.C. et MILLINGTON P.F.,1968. Electron microscope studies of phosphatases in the small intestine of Rana temporaria during larval development and metamorphosis. Histochemie., 12, 83-94.

BROWN G.W. Jr, BROWN W.R. et COHEN P.P., 1959. Comparative biochemistry of urea synthesis. II. Levels of urea cycle enzymes in metamorphosing Rana catesbeiana tadpoles. J. biol. Chem., 234, 1775-1780.

BROYLES R.H., 1981. Changes in the blood during amphibian metamorphosis. Dans : "Metamorphosis : A problem in developmental biology." (Gilbert L.I. et Frieden E. éds), pp. 461-490, Plenum Press, New York.

BROYLES R.H., JOHNSON G.M., MAPLES P.B. et KINDELL G.R., 1981. Two erythropoietic microenvironments and two larval red cell lines in bullfrog tadpoles. Developt. Biol., 81, 299-314.

BRUCKER R.F. et COHEN P.P., 1976. Alterations in enzyme and cytochrome profiles of Rana catesbeiana liver organelles during thyroxine-induced metamorphosis. Changes in membrane-localized phosphohydrolases, oxidoreductases, and cytochrome levels in response to in vivo thyroxine administration. J. biol. Chem.,251, 6161-6169.

BRUGAL G., 1971. Etude autoradiographique de l'influence de la température sur la prolifération cellulaire chez les embryons âgés de Pleurodeles waltlii Michah (Amphibien Urodèle). Arch. (Wilhelm Roux) Entwickl. Mech. Organ., 168, 205-225.

BULLOCK W.L., 1967. The intestinal histology of the mosquito fish, Gambusia affinis (Baird and Girard). Acta zool., 48, 1-17.

BUUS O. et LARSEN L.O., 1975. Absence of known corticosteroids in blood of river lampreys (Lampetra fluviatilis) after treatment with mammalian corticotropin. Gen. comp. Endocrinol., 26, 96-99.

CALVERT R. et MENARD D., 1978. Cytochemical and biochemical studies on the differentiation of microperoxisomes in the small intestine of the fetal mouse. Developt. Biol., 65, 342-352.

CAMPBELL A.M., CORRANCE M.H., DAVIDSON J.N. et KEIR H.M., 1969. The metabolism of DNA in the liver during precocious induction of metamorphosis in Rana catesbeiana. Proc. r. Soc. Edinburgh., B, 70, 295-310.

CARLSON B.M., 1974. Factors controlling the initiation and cessation of early events in the regenerative process. Dans : "Neoplasia and Cell Differentiation." (Sherbet, G.V., éd.), pp. 60-105, S. Karger, Basel.

CARVER V.H. et FRIEDEN E., 1977. Gut regression during spontaneous and triiodothyronine induced-metamorphosis in Rana catesbeiana tadpoles. Gen. comp. Endocrinol., 31, 202-207.

CHAMBERS C. et GREY R.D., 1979. Development of the structural components of the brush border in absorptive cells of the chick intestine. Cell Tissue Res., 204, 387-405.

CHENG H., 1974a. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. II. Mucous cells. Amer. J. Anat., 141, 481-502.

CHENG H., 1974b. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. IV. Paneth cells. Amer. J. Anat., 141, 521-536.

CHENG H. et LEBLOND C.P., 1974. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. Amer. J. Anat., 141, 461-561.

CHIBON P., 1968. Etude au moyen de la thymidine tritiée de la durée des cycles mitotiques dans la jeune larve de Pleurodeles waltlii Michah (Amphibien Urodèle). C.R. Acad. Sci., Fr., 267, 203-205.

CHIBON P. et BRUGAL G., 1969. Etude autoradiographique de l'action de la température et de la thyroxine sur la durée des cycles mitotiques dans l'embryon âgé et la jeune larve de Pleurodeles waltlii Michah (Amphibien Urodèle). C.R. Acad. Sci., Fr., 269, 70-73.

CHIBON P. et DOURNON C., 1972. Etude autoradiographique de quelques paramètres de la prolifération cellulaire pendant la métamorphose naturelle du crapaud Bufo bufo L. C.R. Acad. Sci., Fr., 275, 255-258.

CHIEFFI G. et CARFAGNA M., 1959a. Variazioni del contenuto della fosfatasi alcalina nell'intestino di Rana esculenta durante la metamorfosi. Atti Accad. nazion. Lincei, R.C., ser. 8, 26, 94-98.

CHIEFFI G. et CARFAGNA M., 1959b. Comportamento della fosfatasi alcalina nell'intestino de larve di anfibi anuri durante la metamorfosi. Acta Embryol. Morphol. exper., 2, 317-319.

CHIEFFI G. et CARFAGNA M., 1960. The alkaline phosphatase of the intestinal epithelium of Bufo vulgaris tadpoles during metamorphosis. The influence of hydrocortisone on the epithelial phosphatase in vitro. Acta Embryol. Morphol. exper., 3, 213-220.

CHIN K.N. et HUDSON G., 1971. Ultrastructure of Peyer's patches in the normal mouse. Acta anat., 78, 306-318.

CHIN K.N. et WONG W.C., 1977. Some ultrastructural observations on the intestinal mucosa of the toad (Bufo melanostictus). J. Anat., 123, 331-339.

CHOU H.T.I. et KOLLROS J.J., 1974. Stage-modified responses to thyroid hormone in anurans. Gen. comp. Endocrinol., 22, 255-260.

CLEMONS G.K., 1976. Assays of pituitary and thyroid hormones in relation to metamorphosis in bullfrogs. Dissert. Abstr., 37, 94B (abstr.)

CLONEY R.A., 1961. Observations on the mechanism of tail resorption in ascidians. Amer. Zoologist., 1, 67-87.

COHEN A., 1957. Développement de l'activité phosphatasique alcaline au niveau de l'intestin d'embryons de rats. C.R. Soc. Biol., 151, 918-921.

COHEN A. et BERRILL N.J., 1936. Cell division and differentiation in the growth of specialized vertebrate tissues. J. Morphol., 60, 243-259.

COHEN G., DEMBIEC D. et MARCUS J., 1970. Measurement of catalase activity in tissue extracts. Anal. Biochem., 34, 30-38.

COHEN P.P., 1970. Biochemical differentiation during amphibian metamorphosis. Thyroxine affects liver cytology, transcription, translation, and mitochondrial enzyme level. Science, U.S.A., 168, 533-543.

COHEN P.P., BRUCKER R.F. et MORRIS S.M., 1978. Cellular and molecular aspects of thyroid hormone action during amphibian metamorphosis. Dans : "Hormonal Proteins and Peptides." (Li C.H., éd.), 6, pp. 273-381. Academic Press, New York.

CONNOCK M.J., 1973. Intestinal peroxisomes in the goldfish (Carassius auratus). Comp. Biochem. Physiol., 45A, 945-951.

CONNOCK M.J., KIRK P.R. et STURDEE A.P., 1974. A zonal rotor method for the preparation of microperoxisomes from epithelial cells of guinea-pig small intestine. J. Cell Biol., 61, 123-133.

CONNOCK M.J. et POVER W., 1970. Catalase particles in the epithelial cells of the guinea-pig small intestine. Histochem. J., 2, 371-380.

CRANE R.K., BOGE G. et RIGAL A., 1979. Isolation of brush border membranes in vesicular form from the intestinal spiral valve of the small dogfish (Scyliorhinus canicula). Biochim. biophys. Acta., 554, 264-267.

CRANE R.K., MENARD D., PREISER J. et CERDA J., 1976. The molecular basis of brush membrane disease. Dans : "Membranes and Disease." (Hoffman J.F. et Leaf A., éds), pp. 229-241, Raven Press, New York.

CRITCHLEY D.R., HOWELL K.E. et EICHHOLZ A., 1970. Separation of brush border proteins after solubilization with detergents. Feder. Proc., 29, 596.

CRITCHLEY D.R., HOWELL K.E. et EICHHOLZ A., 1975. Solubilization of brush borders of hamster small intestine and fractionation of some of the components. Biochem. biophys. Acta., 394, 361-376.

DABURON F., CHOMETTE G., GARNIER H., REMY J., VILLIERS P.A. et NIZZA P., 1975. Experimental treatment of pig irradiated on the abdomen with supralethal doses. First results. Strahlentherapie., 146, 718-733.

DALE E., 1962. Steroid excretion by larval frogs. Gen. comp. Endocrinol., 2, 171-176.

DAUÇA M., 1977. Etudes des phénomènes histogénétiques affectant la paroi intestinale de deux Amphibiens Anoures, Discoglossus pictus et Alytes obstetricans, lors des métamorphoses naturelle et induite. Thèse de Doctorat de 3ème cycle, Orsay, N° C.N.R.S. 2229.

DAUÇA M.,CALVERT R., MENARD D., HUGON J.S. et HOURDRY J., 1982. Development of peroxisomes in Amphibians. I. Cytochemical and biochemical studies on the small intestine. J. exper. Zool., (sous presse).

DAUÇA M., CALVERT R., MENARD D., HUGON J.S. et HOURDRY J. Development of peroxisomes in Amphibians. II. Cytochemical and biochemical studies on the liver, kidney and pancreas. J. exper. Zool., (Comité de lecture).

DAUÇA M. et HOURDRY J., 1977.Analyse quantitative des remaniements intestinaux et évolution de la synthèse de l'ADN. Etude chez les larves d'Alytes obstetricans (Amphibien Anoure) traitées par la thyroxine. Arch. (Wilhelm Roux) Entwickl. Mech. Organ., 183, 119-129.

DAUÇA M. et HOURDRY J., 1978a. Isolement de l'épithélium intestinal chez le Crapaud-accoucheur à l'état larvaire ou juvénile. Biol. cell., 33, 85-88.

DAUÇA M. et HOURDRY J., 1978b. Analyse quantitative des remaniements intestinaux et évolution de la synthèse de l'ADN. Etude chez les larves d'Alytes obstetricans et de Discoglossus pictus (Amphibiens Anoures) en métamorphose spontanée. Biol. cell., 31, 277-286.

DAUÇA M. et HOURDRY J., 1978c. Variations de l'activité spécifique de l'ADN intestinal chez la larve d'Alytes obstetricans (Amphibien Anoure) traitée par la thyroxine. C.R.Acad. Sci., Fr., 286, 973-975.

DAUÇA M. et HOURDRY J., 1979a. Conjugated effects of thyroxine and X-rays on the intestinal wall of Alytes obstetricans larvae (Anuran Amphibian). Cell Tissue Res., 204, 279-291.

DAUÇA M. et HOURDRY J., 1981a. Remaniements de l'intestin des larves de Crapaud-accoucheur (Alytes obstetricans) lors d'une métamorphose spontanée ou induite par la thyroxine. Etude morphométrique et évolution du raport protéines/ADN. C.R. Acad. Sci., Fr., 292, 69-72.

DAUÇA M., HOURDRY J., HUGON J.S. et MENARD D., 1979b. Amphibian intestinal brush border membranes. I. Isolation from Rana catesbeiana tadpole. Comp. Biochem. Physiol., 64B, 155-159.

DAUÇA M., HOURDRY J., HUGON J.S. et MENARD D., 1980a. Amphibian intestinal brush border enzymes during thyroxine-induced metamorphosis. A biochemical and cytochemical study. Histochemistry., 70, 33-42.

DAUÇA M., HOURDRY J., HUGON J.S. et MENARD D., 1980b. Amphibian intestinal brush border membranes. II. Isolation from Rana catesbeiana adult. Comp. Biochem. Physiol., 66B, 111-115.

DAUÇA M., HOURDRY J., HUGON J.S. et MENARD D., 1981b. Amphibian intestinal brush border membranes. III. Comparison during metamorphosis of the protein, glycoprotein and enzyme patterns after gel electrophoretic separation of SDS-solubilized membranes. Comp. Biochem. Physiol., 69B, 15-22.

DAUÇA M., HOURDRY J. et POUYET J.C., 1976. Effets in vivo et in vitro de la thyroxine sur l' épithélium intestinal des Amphibiens Anoures. Bull. Soc. zool., Fr., 101, suppl. 5, 75-79.

DAVID H., 1980. Morphometric analysis of peroxisomes in the liver cells of male rats during postnatal development. Exper. Pathol., 18, 321-328.

De DUVE C., 1969a. Evolution of the peroxisome. Ann. New York Acad. Sci., 168, 369-381.

De DUVE C., 1969b. The peroxisome : A new cytoplasmic organelle. Proc. r. Soc., G.B., B, 173, 71-83.

De DUVE C., 1973. Biochemical studies on the occurrence, biogenesis and life history of mammalian peroxisomes. J. Histochem. Cytochem., 21, 941-948.

De DUVE C. et BAUDHUIN P., 1966. Peroxisomes (microbodies and related particles). Physiol. Rev., 46, 323-357.

DELSOL M. et FLATIN J., 1972. Morphogénèse et métamorphose de l'intestin des Urodèles au cours du développement post-embryonnaire. Action de la thyroxine. Bull. Soc. zool., Fr., 97, 449-461.

DELSOL M. et ZERVUDACKI M.T., 1963. Sur l'existence de zones préférentielles dans la métamorphose naturelle comme en survie dans l'intestin du têtard d'Alytes obstetricans. C.R. Soc. Biol., Fr., 157, 65-66.

De PRIESTER W., 1972 Ultrastructural changes in developing midgut epithelium of Calliphora erythrocephala Meig. Z. Zellforsch. mikr. Anat., 129, 278-289.

DERBY A., 1968. An in vitro quantitative analysis of the response of tadpole tissue to thyroxine. J. exper. Zool., 168, 147-156.

DETRICK L.E., LATTA H., UPHAM H.C. et McCANDLESS R., 1963. Electron microscopic changes across irradiated rat intestinal villi. Rad. Res., 19, 447-461.

De WITT W., 1968. Microcytic response to thyroxin administration. J. molec. Biol., 32, 493-504.

De WITT W., 1971. Differences in methionyl- and arginyl-tRNA's of larval and adult bullfrogs. Biochem. biophys. Res. Communic., 42, 266-270.

DHANARAJAN Z.C. et ATKINSON B.G., 1981. Thyroid hormone-induced differentiation and development of anuran tadpole hind limbs : detection and quantitation of M-line protein and α-actinin synthesis. Developt. Biol., 82, 317-328.

DODD M.H.I. et DODD J.M., 1976. The biology of metamorphosis. Dans : "Physiology of the Amphibia" (Lofts B., éd.), pp. 467-599. Academic Press, New York.

DOELL R.R. et KRETCHMER N., 1964. Intestinal invertase : Precocious development of activity after injection of hydrocortisone. Science, U.S.A., 143, 42-44.

DOLPHIN J.L. et FRIEDEN E., 1955. Biochemistry of amphibian metamorphosis. II. Arginase activity. J. biol. Chem., 217, 735-744.

DOURNON C. et CHIBON P., 1974. Influence de la température, de l'âge et des conditions hormonales (thyroxine) sur la prolifération cellulaire chez la jeune larve et pendant la métamorphose du crapaud Bufo bufo L. (Amphibien Anoure). Arch. (Wilhem Roux) Entwickl. Mech. Organ., 175, 27-47.

DRATMAN M.B., 1974. On the mechanism of action of thyroxin, an amino acid analog of tyrosine. J. theor. Biol., 46, 255-270.

DUCIBELLA T., 1974. The influence of L-thyroxine on the change in red blood cell type in the Axolotl. Developt. Biol., 38, 187-194.

EALES J.G., 1977a. Use of thyroxine-and triiodothyronine-specific antibodies to study thyroxine kinetics in rainbow trout, Salmo gairdneri. Gen. comp. Endocrinol., 32, 89-98.

EALES J.G., 1977b. In vivo determination of thyroxine deiodination rate in rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson. Gen. comp. Endocrinol., 33, 541-546.

EASTWOOD G.L. et TRIER J.S., 1974. Epithelial cell proliferation during organogenesis of rat colon. Anat. Rec., 179, 303-309.

EATON J.E. et FRIEDEN E., 1968. Molecular changes during anuran metamorphosis; early effects of triiodothyronine on nucleotide and RNA metabolism in the bullfrog tadpole liver. Gunma Symposia on Endocrinology., 5, 43-55.

ELIAS H. et SHERRICK J.C., 1969. Dans : "Morphology of the liver (Elias H. et Sherrick J.C., éds), 6, p. 195. Academic Press, New York.

EL SALHY M., GRIMELIUS L., WILANDER E., ABU-SINNA G. et LUNDQVIST G., 1981. Histological and immunohistochemical studies of the endocrine cells of the gastrointestinal mucosa of the toad (Bufo regularis). Histochemistry., 71, 53-65.

ERGENZEN S. et GORBMAN A., 1977. Binding of thyroxine with subcellular components of brain, liver and tail tissues of Rana pipiens tadpoles. Gen. comp. Endocrinol., 31, 492-494.

ERMAK T.H., 1975. Cell proliferation in the digestive tract of Styela clava (Urochordata, Ascidiacea) as revealed by autoradiography with tritiated-thymidine. J. exper. Zool., 194, 449-466.

ERMAK T.H., 1976. Cell migration kinetics in the stomach of Styela clava (Urochordata, Ascidiacea). J. exper. Zool., 197, 339-346.

ERMAK T.H., 1981. A comparison of cell proliferation patterns in the digestive tract. J. exper. Zool., 217, 325-341.

ETKIN W., 1935. The mechanisms of anuran metamorphosis. I. Thyroxine concentration and the metamorphic pattern. J. exper. Zool., 71, 317-340.

ETKIN W., 1950. The acquisition of thyroxine-sensivity by tadpole tissues. Anat. Rec., 108, 541.

ETKIN, W., 1963. Metamorphosis activating system of the frog. Science, U.S.A., 139, 810-814.

ETKIN W., 1964. Metamorphosis. Dans : "Physiology of the Amphibia." (Moore J.A., éd.),pp. 427-468. Academic Press, New York et Londres.

ETKIN W., 1966. Hypothalamic sensitivity to thyroid feedback in the tadpole. Neuroendocrinology., 1, 293-302.

ETKIN W., 1968. Hormonal control of amphibian metamorphosis. Dans : "Metamorphosis : A problem in developmental Biology." (Etkin W. et Gilbert L.I., éds), pp. 313-348. Appleton-Century-Crofts, New York.

ETKIN W. et GONA A., 1974. Evolution of thyroid function in poikilothermic vertebrates. Handb. Physiol., sect. 7, Endocrinology, 3, 5-19.

FALKMER S., ELDE R.P., HELLERSTRÖM C. et PETERSSON B., 1978. Phylogenetic aspects of somatostatin in the gastro-entero-pancreatic (GEP) endocrine system. Metabolism., 27, 1193-1196.

FELDHOFF R.C., 1971. Quantitative changes in plasma albumin during bullfrog metamorphosis. Comp. Biochem. Physiol., 40B, 733-739.

FICHTELIUS K.E., FINSTAD J. et GOOD R.A., 1969. The phylogenetic occurrence of lymphocytes within the gut epithelium. Internation. Arch. Allergy appl. Immunol., 35, 119-133.

FINAMORE F.J. et FRIEDEN E., 1960. Nucleic acids and induced amphibian metamorphosis. J. biol. Chem., 235, 1751-1755.

FISHER D.A., CHOPRA I.J. et DUSSAULT J.H., 1972. Extrathyroidal conversion of thyroxine to triiodothyronine in sheep. Endocrinology., 91, 1141-1144.

FLANAGAN P.R. et FORSTNER G.G., 1979. Enzyme activity in partly dissociated fragments of rat intestinal maltase/glucoamylase. Biochem. J., 177, 487-492.

FLETCHER K. et MYANT N.B., 1959. Oxygen consumption of tadpoles during metamorphosis. J. Physiol.,G.B., 145, 353-368.

FORSTNER G.G.etGALAND G., 1976. The influence of hydrocortisone on the synthesis and turnover of microvillous membrane glycoproteins in suckling rat intestine. Canad. J. Biochem., 54, 224-232.

FORSTNER G.G., SABESIN S.M. et ISSELBACHER K.J., 1968. Rat intestinal microvillus membranes. Purification and biochemical characterization. Biochem. J., 106, 381-390.

FORTE G.M., LIMLOMWONGSE L. et FORTE J.G., 1969. The development of intracellular membranes concomitant with the appearance of HCl secretion in oxyntic cells of the metamorphosing bullfrog tadpole. J. Cell Sci., 4, 709-727.

FOXON G.E.H., 1964. Blood and respiration. Dans : "Physiology of the Amphibia." (Moore J.A., éd.), pp. 151-209. Academic Press, New York.

FRIEDEN E., 1968. Biochemistry of amphibian metamorphosis. Dans : "Metamorphosis : A problem in developmental Biology." (Etkin W. et Gilbert L.I., éds), pp. 349-398. Appleton-Century-Crofts, New York.

FRIEDEN E. et JUST J.J., 1970. Hormonal responses in amphibian metamorphosis. Dans : "Biochemical Actions of Hormones." (Litwack G., éd.) 1, pp. 1-52. Academic Press, New York.

FRIEDEN E. et NAILE B., 1955. Biochemistry of amphibian metamorphosis. I. Enhancement of induced metamorphosis by glucocorticoids. Science, U.S.A., 121, 37-39.

FRIEDEN E. et YOSHIZATO K., 1974. Thyromimetic activity of methylthyronines in the bullfrog tadpole. Endocrinology., 95, 188-194.

FRY R.J.M., LESHER S., KISIELESKI W.E. et SACHER G., 1963. "Cell proliferation in the small intestine : Cell proliferation." (Lamerton L.J. et Fry R.J.M., éds), pp. 213-233. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

FUJITA M., KAWAI K., ASANO S. et NAKAO M., 1973. Protein components of two different regions of an intestinal epithelial cell membrane. Regional singularities. Biochim. biophys. Acta., 307, 141-151.

GABE M., 1972. Données histologiques sur les cellules endocrines gastro-duodénales des amphibiens. Arch. histol. jap., 35, 51-81.

GAHAN P.B., 1967. Histochemistry of lysosomes. Internation. Rev. Cytol., 21, 1-63.

GALAND G. et FORSTNER G.G., 1974. Isolation of microvillus plasma membranes from suckling-rat intestine. The influence of premature induction of digestive enzymes by injection of cortisol acetate. Biochem. J., 144, 293-302.

GALJAARD H., BUYS J., van DUUREN et GLESEN J., 1970. A quantitative histochemical study of intestinal mucosa after X-irradiation. J. Histochem. Cytochem., 18, 291-301.

GALTON V.A., 1980a. Binding of thyroid hormones in vivo by hepatic nuclei of Rana catesbeiana tadpoles. Endocrinology., 106, 859-866.

GALTON V.A., 1980b. Binding of thyroid hormones in vivo by hepatic nuclei of Rana catesbeiana tadpoles at different stages of metamorphosis. Endocrinology., 107, 1910-1915.

GALTON V.A. et COHEN J.S., 1980. Action of thyroid hormones in premetamorphic tadpoles : an important role for thyroxine ? Endocrinology., 107, 1820-1826.

GALTON V.A. et MUNCK K., 1981. Metabolism of thyroxine in Rana catesbeiana tadpoles during metamorphic climax. Endocrinology., 109, 1127-1131.

GÄNSLER H. et ROUILLER C., 1956. Modifications physiologiques et pathologiques du chondriome. Schweiz. Z. allg. Pathol. Bakteriol., 19, 217-243.

GARCIA M.N. et JOHNSON H.A., 1972. Cell proliferation kinetics in goldfish acclimated to various temperatures. Cell Tissue Kinet., 5, 331-339.

GARVEY T.Q., HYMAN P.E. et ISSELBACHER K.J., 1976. γ-glutamyltranspeptidase of rat intestine : Localization and possible role in amino acid transport. Gastroenterology., 71, 778-785.

GAS N. et NOAILLAC-DEPEYRE J., 1974. Renouvellement de l'épithélium intestinal de la Carpe (Cyprinus carpio L.). Influence de la saison. C.R. Acad. Sci., Fr., 279, 1085-1088.

GIUNTA C., CAMPANTICO E., VIETTI M. et GUASTALLA A., 1972. Prolactin stabilizing action on the lysosomes in the tail and gut from Rana temporaria tadpoles at prometamorphosis. Gen. comp. Endocrinol., 18, 568-571.

GLOSSMANN H. et NEVILLE D.M.Jr., 1971. Glycoproteins of cell surfaces. A comparative study of three different cell surfaces of the rat. J. biol. Chem., 246, 6339-6346.

GOECKERMANN J.A. et VIGIL E.L., 1975. Peroxisome development in the metanephric kidney of mouse. J. Histochem. Cytochem., 23, 957-973.

GONA A.G., 1976. Autoradiographic studies of cerebellar histogenesis in the bullfrog tadpole during metamorphosis : The external granular layer. J. comp. Neurol., 165, 77-88.

GOODMAN D.B.P., DAVIS W.L. et JONES R.G., 1980. Glyoxylate cycle in toad urinary bladder : Possible stimulation by aldosterone. Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A., 77, 1521-1525.

GOSSRAU R., 1973. β-glucosidase and lactase in the intestine of vertebrates. Histochemie., 35, 143-151.

GREEN J.R. et HADORN B., 1977. Glycosidases of the guinea-pig brush-border membrane. Biochim. biophys. Acta., 467, 86-90.

GRISWOLD M.D. et COHEN P.P., 1972. Alteration of deoxyribonucleic acid-dependent ribonucleic acid polymerase activities in amphibian liver nuclei during thyroxine-induced metamorphosis. J. biol. Chem., 247, 353-359.

GRISWOLD M.D., FISCHER M.S. et COHEN P.P., 1972. Temperature-dependent intracellular distribution of thyroxine in amphibian liver. Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A., 69, 1486-1489.

GUDERNATSCH J.F., 1912. Feeding experiments on tadpoles. I. The influence of specific organs given as food on growth and differentiation. A contribution to the knowledge of organs with internal secretion. Arch. (Wilhelm Roux) Entwickl. Mech. Organ., 35, 457-483.

GUERNSEY D.L., ONG A. et BOREK C., 1980. Thyroid-hormone modulation of X-ray-induced in vitro neoplastic transformation. Nature., 288, 591-592.

HAGEMANN R.F. et LESHER S., 1971. Intestinal crypt survival and total and per crypt levels of proliferative cellularity following irradiation : Age response and animal lethality. Rad. Res., 47, 159-161.

HAGENBUCHLE O., SCHIBLER U. et WEBER R., 1976. Incorporation of 5-^{3}H uridine into ribonucleotide pools and RNA during thyroxine-induced metamorphosis of Xenopus laevis tadpoles. Molec. cell. Endocrinol., 4, 61-77.

HALLIDAY R., 1959. The effect of steroid hormones on the absorption of antibody by the young rat. J. Endocrinol., 18, 56-66.

HAMBURGH M., KIM Y., TUNG G., CRENSHAW R. et MENDOZA L.A., 1981. The significance of the latent period in thyroid hormone induced tissue regression during amphibian metamorphosis. Developt. Biol., 81, 392-398.

HAMILTON E., 1977. Differences in survival of mouse colon crypts after whole- or partial-body irradiation. Internat. J. Rad. Biol., 31, 341-347.

HAMILTON E., 1978. Cell proliferation and ageing in mouse colon. I. Repopulation after repeated X-ray injury in young and old mice. Cell. Tissue Kinet., 11, 423-431.

HAN A. et ELKIND M.D., 1978. Ultraviolet light and X-ray damage interaction in chinese hamster cells. Rad. Res., 74, 88-100.

HANE S. et ROBERTSON O.H., 1959. Changes in plasma 17-hydroxycorticosteroids accompanying sexual maturation and spawning of the Pacific salmon (Oncorhynchus tschawytscha) and rainbow trout (Salmo gairdneri). Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A., 45, 886-893.

HANKE W. et LEIST K.H., 1971. The effect of ACTH and corticosteroids on carbohydrate metabolism during the metamorphosis of Xenopus laevis. Gen. comp. Endocrinol., 16, 137-148.

HANSEN S.J. et YOUSON J.H., 1978. Cell renewal in the epithelium of the alimentary tract of the larval lamprey, Petromyzon marinus L. J. Morphol., 155, 219-236.

HAYNIE J.L. et BRYANT P.J., 1977. The effects of X-rays on the proliferation dynamics of cells in the imaginal wing disc of Drosophila melanogaster. Arch. (Wilhem Roux) Entwickl. Mech. Organ., 183, 85-100.

HEADY J.E. et KOLLROS J.J., 1964. Hormonal modification of the development of plical skin glands. Gen. comp. Endocrinol., 4, 124-131.

HENNING S.J. et KRETCHMER N., 1973. Development of intestinal function in Mammals. Enzyme., 15, 3-23.

HENNING S.J. et SIMS J.M., 1979. Delineation of the glucocorticoid-sensitive period of intestinal development in the rat. Endocrinology., 104, 1158-1163.

HERMOS J.A., MATHAN M. et TRIER J.S., 1971. DNA synthesis and proliferation by villous epithelial cells in fetal rats. J. Cell Biol., 50, 255-258.

HICKS L. et FAHIMI H.D., 1977. Peroxisomes (microbodies) in the myocardium of rodents and primates. A comparative ultrastructural cytochemical study. Cell Tissue Res., 175, 457-481.

HOGG J.F., 1969. The nature and function of peroxisomes (microbodies, glyoxysomes). Ann. New York Acad. Sci., 168, 209.

HOLMES R.S. et MASTERS C.J., 1978. Genetic control and ontogeny of microbody enzymes : A review. Biochem. Genet., 16, 171-190.

HOPWOOD L.E., 1974. Cause of deficient DNA synthesis in generation 1 of X-irradiated Hela cells. Rad. Res., 58, 349-360.

HOURDRY J., 1969a. Remaniements ultrastructuraux de l'épithélium intestinal chez la larve d'un amphibien anoure en métamorphose, Alytes obstetricans Laur. I. Phénomènes histolytiques. Z. Zellforsch. mikr. Anat., 101, 527-554.

HOURDRY J., 1969b. Remaniements ultrastructuraux de l'épithélium intestinal chez la larve d'un amphibien anoure en métamorphose, Alytes obstetricans Laur. II. Phénomènes histogénétiques. Z. Zellforsch. mikr. Anat., 101, 555-567.

HOURDRY J., 1970. Modifications morphologiques, structurales et ultrastructurales de l'intestin, chez des larves de Discoglossus pictus Otth , immergées dans une solution de thyroxine. C.R. Soc. Biol., 164, 521-525.

HOURDRY J., 1971a. Evolution des processus lytiques dans l'épithélium intestinal de Discoglossus pictus Otth (Amphibien Anoure), au cours de sa métamorphose. J. Micr., 10, 41-58.

HOURDRY J., 1971b. Etude histochimique de quelques hydrolases lysosomiques de l'épithélium intestinal, au cours du développement de la larve de Discoglossus pictus Otth , Amphibien Anoure. I. Observation au microscope photonique. Histochemie., 26, 126-141.

HOURDRY J., 1971c. Etude histochimique de quelques hydrolases lysosomiques de l'épithélium intestinal, au cours du développement de la larve de Discoglossus pictus Otth, Amphibien Anoure. II. Observation au microscope électronique. Histochemie., 26, 142-159.

HOURDRY J., 1971d. Action de la thyroxine exogène sur l'épithélium intestinal de la larve d'un Amphibien Anoure, Discoglossus pictus Otth. J. Micr., 12, 205-224.

HOURDRY J., 1972a. Evolution de l'épithélium intestinal de quelques Amphibiens Anoures, au cours de la métamorphose. Thèse de Doctorat d'Etat, Orsay, N° C.N.R.S. : 7810.

HOURDRY J., 1972b. Dosage de l'activité phosphatasique acide totale d'homogénats intestinaux chez des larves de Discoglossus pictus Otth traitées par la thyroxine. C.R. Acad. Sci., Fr., 275, 2937-2940.

HOURDRY J., 1974. Dosage des activités de quelques hydrolases lysosomiques intestinales, au cours du développement larvaire de Discoglossus pictus Otth, Amphibien Anoure. Arch. (Wilhelm Roux) Entwickl. Mech. Organ., 174, 222-233.

HOURDRY J., 1980. Quelques aspects biochimiques de la métamorphose des Amphibiens. Année biol., 19, 249-287.

HOURDRY J., CHABOT J.G., MENARD D. et HUGON J.S., 1979. Intestinal brush border enzyme activities in developing amphibian Rana catesbeiana. Comp. Biochem. Physiol., 63A, 121-125.

HOURDRY J. et DAUÇA M., 1977. Cytological and cytochemical changes in the intestinal epithelium during anuran metamorphosis. Internat. Rev. Cytol., suppl. 5, 337-385.

HOURDRY J. et HUGON J.S., 1979. Ultrastructural localization of alkaline phosphatase activity in the intestine of developing Rana catesbeiana. Histochemistry., 63, 181-190.

HRUBAN Z. et RECHEIGL M., 1969. Microbodies and related particles. Morphology, biochemistry and physiology. Internat. Rev. Cytol., suppl. 1, 1-296.

HRUBAN Z., VIGIL E.L., SLESERS A. et HOPKINS E., 1972. Microbodies. Constituent organelles of animal cells. Lab. Invest., 27, 184-191.

HUBSCHER G., WEST G.R. et BRINDLEY D.N., 1965. Studies on the fractionation of mucosal homogenates from the small intestine. Biochem. J., 97, 629-642.

HUGON J.S. et BORGERS M., 1966a. Ultrastructural and cytochemical studies on karyolytic bodies in the epithelium of the duodenal crypts of whole body X-irradiated mice. Lab. Invest., 15, 1528-1543.

HUGON J.S. et BORGERS M., 1966b. Fine structural changes and localization of phosphatases in the epithelium of the duodenal crypt of X-irradiated mice. Histochemie., 6, 209-225.

HUGON J.S. et BORGERS M., 1968a. Fine structure of the nuclei of the duodenal crypt cells after X-irradiation. Amer. J. Pathol., 52, 701-723.

HUGON J.S. et BORGERS M., 1968b. Fine structural localization of acid and alkaline phosphatase activities in the absorbing cells of the duodenum of rodents. Histochemie., 12, 42-66.

HUGON J.S., MAISIN J.R. et BORGERS M., 1965. Changes in ultrastructure of duodenal crypts in X-irradiated mice. Rad. Res., 25, 489-502.

HYODO-TAGUCHI T., 1970. Effect of X-irradiation on DNA synthesis and cell proliferation in the intestinal epithelial cells of goldfish at different temperatures with special reference to recovery process. Rad. Res., 41, 568-578.

IGNAT'EVA G.M. et KOSTOMAROVA A.A., 1966. Duration of the mitotic cycle in the period of synchronous cleavage divisions (t_0) and its relationship to temperature in the loach embryo. Dokl. Akad. Nauk Uz. S.S.R., 168, 330-333.

JAFFE R.C., 1981. Plasma concentration of corticosterone during Rana catesbeiana tadpole metamorphosis. Gen. comp. Endocrinol., 44, 314-318.

JANES R.G., 1934. Studies on the amphibian digestive system. I. Histological changes in the alimentary tract of anuran larvae during involution. J. exper. Zool., 67, 73-91.

JOHNSON C.F., 1967. Disaccharidase localization in hamster intestine brush borders. Science, U.S.A., 155, 1670-1672.

JOHNSON C.F., 1969. Hamster intestinal brush border surface particles and their function. Fedn. Proc. Fedn. Am. Socs. exp. Biol., 28, 26-29.

JOLY P., 1937. Métamorphose de l'intestin chez le Discoglossus pictus. Trav. Stn. biol., Roscoff., 15, 31-54.

JONES R.G., DAVIS W.L. et GOODMAN D.B.P., 1981. Microperoxisomes in the epithelial cells of the amphibian urinary bladder. An electron microscopic demonstration of catalase and malate synthase. J. Histochem. Cytochem., 29, 1150-1156.

JORGENSEN E.C., 1978. Thyroid hormones and analogs. I. Synthesis, physical properties and theoretical calculations. Dans : "Hormonal Proteins and Peptides." (Li C.H., éd.), 6, pp. 57-105, Academic Press New York.

JUST J.J., 1972. Protein-bound iodine and protein concentration in plasma and pericardial fluid of metamorphosing anuran tadpoles. Physiol. Zool., 45, 143-152.

JUST J.J. et ATKINSON B.G., 1972. Hemoglobin transitions in the bullfrog Rana catesbeiana, during spontaneous and induced metamorphosis. J. exper. Zool., 182, 271-280.

JUST J.J., GATZ R.N. et CRAWFORD E.C., 1973. Changes in respiratory functions during metamorphosis of the bullfrog, Rana catesbeiana. Respir. Physiol., 17, 276-282.

KALTENBACH J.C., 1958. Direct steroid enhancement of induced metamorphosis in peripheral tissues. Anat. Rec., 131, 569-570.

KALTENBACH J.C., 1968. Nature of hormone action in amphibian metamorphosis. Dans : "Metamorphosis : A problem in developmental Biology." (Etkin W. et Gilbert L.I., éds), pp. 399-441. Appleton-Century-Crofts, New York.

KALTENBACH J.C., HARDING C.V. et SUSAN S., 1980. Surface ultrastructure of the cornea and adjacent epidermis during metamorphosis of Rana pipiens : A scanning electron microscopic study. J. Morphol., 166, 323-335.

KALTENBACH J.C. et HOBBS A.W., 1972. Local action of thyroxine on amphibian metamorphosis. V. Cell division in the eye of anuran larvae effected by thyroxine-cholesterol implants. J. exper. Zool., 179, 157-166.

KALTENBACH J.C. et LEE K.L., 1977. Metamorphic changes in thyroid glands and in serum thyroxine levels of the tadpole. Amer. Zoologist., 17, 938 (abstr.).

KALTENBACH J.C., LIPSON M.J. et WANG C.H.K., 1977. Histochemical study of the amphibian digestive tract during normal and thyroxine-induced metamorphosis. I. Alkaline phosphatase. J. exper. Zool., 202, 103-120.

KANE A.B., STANTON R.P., RAYMOND E.G., DOBSON M.E., KNAFELC M.E. et FARBER J.L., 1980. Dissociation of intracellular lysosomal rupture from the cell death caused by silica. J. Cell Biol., 87, 643-651.

KATAOKA K., 1974. An electron microscopic study of the gastroenteric endocrine cells of the frog, Rana nigromaculata. Dans : "Symposium on the GEP endocrine system." (Fujita T., éd.), pp. 39-48. Georg Thieme, Stuttgart.

KAYE N.W., 1961. Interrelationships of the thyroid and pituitary in embryonic and premetamorphic stages of the frog, Rana pipiens. Gen. comp. Endocrinol., 1, 1-19.

KEDINGER M., SIMON P.M., RAUL F., GRENIER J.F. et HAFFEN K., 1980. The effect of dexamethasone on the development of rat intestinal brush border enzymes in organ culture. Developt. Biol., 74, 9-21.

KENNY J.S., 1969. Feeding mechanisms in anuran larvae. J. Zool., G.B., 157, 225-246.

KESSLER M., ACUTO O., STORELLI C., MURER H., MULLER M. et SEMENZA A., 1978. A modified procedure for the rapid preparation of efficiently transporting vesicles from small intestinal brush border membranes. Their use in investigating some properties of D-glucose and choline transport systems. Biochim. biophys. Acta., 506, 136-154.

KIKUYAMA S., MIYAKAWA M. et ARAI Y., 1979. Influence of thyroid hormone on the development of preoptic-hypothalamic monoaminergic neurons in tadpoles of Bufo bufo japonicus. Cell Tissue Res., 198, 27-33.

KIM K.H. et COHEN P.P., 1966. Modification of tadpole liver chromatin by thyroxine treatment. Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A., 55, 1251-1255.

KIM K.H. et SLICKERS K.A., 1971. Biochemistry of anuran pancreas development during thyroxine-induced metamorphosis. Dans : "Hormones in development." (Hamburg M. et Barrington E.J.W., éds), pp. 321-334. Appleton-Century-Crofts, New York.

KIM Y., HAMBURGH M., FRANKFORT H. et ETKIN W., 1977. Reduction in the latent period of the response to thyroxin by tadpole tail discs fused to discs pretreated with thyroxin. Developt. Biol., 55, 387-391.

KIM Y.S. et PERDOMO J.M., 1974. Membrane glycoproteins of the rat small intestine.Chemical composition of membrane glycoproteins. Biochim. biophys. Acta., 342, 111-124.

KISTLER A. et WEBER R., 1974. Enzyme patterns in mitochondria of eggs, liver, and skeletal muscle during larval development of Xenopus. Develop. Biol., 37, 236-247.

KISTLER A. et WEBER R., 1975. A combined biochemical and morphometric study on tissue changes in Xenopus larvae during induced-metamorphosis. Molec. cell. Endocrinol., 2, 261-288.

KISTLER A., YOSHIZATO K. et FRIEDEN E., 1975a. Binding of thyroxine and triiodothyronine by nuclei of isolated tadpole liver cells. Endocrinology., 97, 1036-1042.

KISTLER A., YOSHIZATO K. et FRIEDEN E., 1975b. Changes in amino acid uptake and protein synthesis of bullfrog tadpole liver and tail tissues during thriiodothyronine-induced metamorphosis. Develop. Biol., 46, 151-159.

KISTLER A., YOSHIZATO K. et FRIEDEN E., 1977. Preferential binding of tri-substituted thyronine analogs by bullfrog tadpole tail fin cytosol. Endocrinology., 100, 134-137.

KLUG H., 1966. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Phagocytose strahlengeschädigter lymphocyten im Thymus von Ratten. Z. Zellforsch. mikr. Anat., 68, 43-56.

KNUTSON T.L. et PRAHLAD K.V., 1971. 3,5,3'-triiodo-L-thyronine uptake and development of metamorphic competence by Xenopus laevis embryonic tissues. J. exper. Zool., 178, 54-57.

KOBAYASHI H., 1958. Effect of desoxycorticosterone acetate on metamorphosis induced by thyroxine in anuran tadpoles. Endocrinology., 62, 371-377.

KOLDOVSKY O., 1972. Hormonal and dietary factors in the development of digestion and absorption. Dans : "Nutrition and Development." (Winick M., éd.), pp. 135-200. John Wiley and sons, New York.

KOLDOVSKY O., JUMAWAN J. et PALMIERI M., 1975. Effect of thyroidectomy on the activity of α-glucosidases and acid hydrolases in the small intestine of rats during weaning. J. Endocrinol., 66, 31-36.

KOLDOVSKY O., SUNSHINE P. et KRETCHMER N., 1966. Cellular migration of intestinal epithelia in suckling and weaned rats. Nature., 212, 1389-1390.

KOLLROS J.J., 1961. Mechanisms of amphibian metamorphosis : Hormones. Amer. Zoologist., 1, 107-114.

KOLLROS J.J. et McMURRAY V.M., 1956. The mesencephalic V nucleus in anurans. II. The influence of thyroid hormone on cell size and cell number. J. exper. Zool., 131, 1-26.

KOPEC J., 1970. Intestinal epithelium of Rana temporaria L. during metamorphosis. Zool. Polon., 20, 199-216.

KRAHLING J.B., GEE R., GAUGER J.A. et TOLBERT N.E., 1979. Postnatal development of peroxisomal and mitochondrial enzymes in rat liver. J. cell. Physiol., 101, 375-390.

KRUG E.C., HONN K.V., BATTISTA J. et NICOLL C.S., 1978. Corticosteroid and thyroid hormone (TH) levels in serum of bullfrog tadpoles during development and metamorphosis. Amer. Zoologist., 18, 614 (abstr.).

KUNTZ A., 1922. Metamorphic changes in the digestive system in Rana pipiens and Amblystoma tigrinum. Univ. Iowa Studies, 10, 37.

KUNTZ A., 1924. Anatomical and physiological changes in the digestive system during metamorphosis in Rana pipiens and Amblystoma tigrinum. J. Morphol., 38, 581-598.

LABARERE J., 1967. Etude descriptive de la métamorphose du tractus digestif chez la grenouille agile (Rana dalmatina Bon.). D.E.S., Fac Sci., Bordeaux., 1-81.

LARSEN L.O., 1973. Development in adult river lamprey and its hormonal control. Ph. D. Thesis, Copenhague.

LARSEN L.O., 1974. Effects of testosterone and oestradiol on gonadectomized and intact male and female river lampreys (Lampetra fluviatilis. L. Gray). Gen. comp. Endocrinol., 24, 306-313.

LARSEN W.J., 1976. Cell remodeling in the fat body of an insect. Tissue and Cell., 8, 73-92.

LEBLOND C.P. et MESSIER B., 1958. Renewal of chief cells and goblet cells in the small intestine as shown by radioautography after injection of thymidine-H^3 into mice. Anat. Rec., 132, 247-259.

LEBLOND C.P. et STEVENS C.E., 1948. The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rat. Anat. Rec., 100, 357-377.

LEDFORD B.E. et FRIEDEN E., 1973. Albumin synthesis during induced and spontaneous metamorphosis in the bullfrog Rana catesbeiana. Develop. Biol., 30, 187-197.

LELOUP J. et BUSCAGLIA M., 1977. La triiodothyronine, hormone de la métamorphose des Amphibiens. C.R. Acad. Sci., Fr., 284, 2261-2263.

LELOUP J. et BUSCAGLIA M., 1980. Thyroxine metabolism in Xenopus laevis tadpoles. Dans : "Thyroid research. VIII. Proceedings of the eight international thyroid congress, Sydney." (Stockigt J.R. et Nagataki S., éds), pp. 233-236. Australian Academy of Science, Canberra.

LESKES A., SIEKEVITZ P. et PALADE G.E., 1971. Differentiation of endoplasmic reticulum in hepatocytes. I. Glucose-6-phosphatase distribution in situ. J. Cell Biol., 49, 264-287.

LESTAGES J., 1979. Recherches sur la morphogénèse, la différenciation cellulaire et l'évolution des systèmes enzymatiques du tube digestif pendant la vie larvaire des Amphibiens Anoures; étude expérimentale de l'influence exercée par des régimes alimentaires différents. Thèse de Doctorat d'Etat, Bordeaux, N° C.N.R.S. : 622.

LEWIS E.J.C. et FRIEDEN E., 1959. Biochemistry of amphibian metamorphosis : effect of triiodothyronine, thyroxin, and dinitrophenol on the respiration of the tadpole. Endocrinology., 65, 273-282.

LIPKIN M., 1973. Proliferation and differentiation of gastro-intestinal cells. Physiol. Rev., 53, 891-915.

LIPSON M.S., 1965. A histochemical study of the digestive tract of amphibian larvae throughout normal and thyroxin-induced metamorphosis. Dissert. Abstr., B, 28, 1730.

LOCKE M., 1981. Cell structure during insect metamorphosis. Dans : "Metamorphosis : A problem in developmental Biology." (Gilbert L.I. et Frieden E., éds), pp. 75-103. Plenum Press, New York.

LOUVARD D., MAROUX S., BARATTI J, DESNUELLE P. et MUSTAFSCHIEV S., 1973. On the preparation and some properties of closed membrane vesicles from hog duodenal and jejunal brush border. Biochim. biophys. Acta, 291, 747-763.

LOUVARD D., MAROUX S., VANNIER C. et DESNUELLE P., 1975. Topological studies on the hydrolases bound to the intestinal brush border membrane. I. Solubilization by papain and Triton X-100. Biochim. biophys. Acta., 375, 236-248.

LÜCK H., 1963. Catalase. Dans : "Methods of enzymatic analysis." (Bergmeyer H.U., éd.), pp 885-894. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstrasse, Germany.

MAEKAWA H. et YAMANA K., 1975. Alkaline phosphatase isozymes of Xenopus laevis embryos and tissues. J. exper. Zool., 192, 155-164.

MAESTRACCI D., 1976. Enzymic solubilization of the human intestinal brush border membrane enzymes. Biochim. biophys. Acta., 433, 469-481.

MAESTRACCI D., PREISER H., HEDGES T., SCHMITZ J. et CRANE R.K., 1975. Enzymes of the human intestinal brush border membrane. Identification after gel electrophoretic separation. Biochim. biophys. Acta., 382, 147-156.

MAESTRACCI D., SCHMITZ J., PREISER H. et CRANE R.K., 1973. Proteins and glycoproteins of the human intestinal brush border membrane. Biochim. biophys. Acta., 323, 113-124.

MAKINO F. et OKADA S., 1975. Effects of ionizing radiations on DNA replication in cultured mammalian cells. Rad. Res., 62, 37-51.

MALO C. et MENARD D., 1979a. Opposite effects of one and three injections of cortisone or thyroxine on intestinal lactase activity in suckling mice. Experentia., 35, 493-494.

MALO C. et MENARD D., 1979b. Effects of cortisone and thyroxine on intestinal trehalase activity in infant mouse. Experentia., 35, 874-875.

MALO C. et MENARD D., 1980. Hormonal control of intestinal glucoamylase activity in suckling and adult mice. Comp. Biochem. Physiol., 65B, 169-172.

MAROUX S. et LOUVARD D., 1977. Les hydrolases de la bordure en brosse des entérocytes de Porc. Leur mode d'intégration à travers l'étude de l'aminopeptidase. Gastroent. clin. Biol., 1, 377-388.

MARSHALL J.A. et DIXON K.E., 1978. Cell proliferation in the intestinal epithelium of Xenopus laevis tadpoles. J. exper. Zool., 203, 31-40.

MARTIN R., 1971. Etude autoradiographique du renouvellement de l'épithélium intestinal de l'Axolotl (Amphibien Urodèle). C. R. Acad. Sci., Fr., 272, 2816-2819.

MASTERS C.J. et HOLMES R.S., 1977. Peroxisomes : New aspects of cell physiology and biochemistry. Physiol. Rev., 57, 816-882.

MASTERS C.J. et HOLMES R.S., 1979. Peroxisomes : Their metabolic roles in mammalian tissues. Trends Biochem. Sci., 4, 233-236.

MATSUZAWA T. et WILSON R., 1965. The intestinal mucosa of germ-free mice after whole body X-irradiation with 3 Kiloroentgens. Rad. Res., 25, 15-24.

McAVOY J.W. et DIXON K.E., 1977. Cell proliferation and renewal in the small intestinal epithelium of metamorphosing and adult Xenopus laevis. J. exper. Zool., 202, 129-138.

McAVOY J.W. et DIXON K.E., 1978a. Cell specialization in the small intestinal epithelium of adult Xenopus laevis : Structural aspects. J. Anat., 125, 155-169.

McAVOY J.W. et DIXON K.E., 1978b. Cell specialization in the small intestinal epithelium of adult Xenopus laevis : Functional aspects. J. Anat., 125, 237-245.

McCURDY H.M., ALGARD F.T. et FRIEDMANN G.B., 1974. Responses of metamorphosing Taricha torosa to X-rays. Canad. J. Zool., 52, 671-676.

McCUTCHEON F.M., 1936. Hemoglobin function during the life history of the bullfrog. J. cell comp. Physiol., 8, 63-81.

McGARRY M.P. et VANABLE J.W., 1969. The role of thyroxine in the formation of gland rudiments in the skin of Xenopus laevis. Developt. Biol., 20, 426-434.

McMAHON E.M. et DE WITT W., 1968. Ribonucleic acid synthesis during thyroxin-induced metamorphosis in bullfrogs. Biochem. biophys. Res. Communic., 31, 176-181.

MEISTER A., TATE S.S., THOMPSON G.A., 1977. On the function of the γ-glutamyl cycle in the transport of amino acids and peptides. Dans : "Peptide transport and hydrolysis." Ciba Foundation symposium, pp. 123-138. Elsevier North-Holland Inc., New York.

MENARD D., MALO C. et CALVERT R., 1981. Development of γ-glutamyltranspeptidase activity in mouse small intestine : influence of cortisone and thyroxine. Biol. Neonatorum., 40, 70-77.

MISCH D.W., 1965. Alteration in subcellular structure of metamorphosing insect intestinal cells. Amer. Zoologist., 5 (4), 699 (Abstr.).

MIYAUCHI H., LA ROCHELLE F.T., SUZUKI M., FREEMAN M. et FRIEDEN E., 1977. Studies on thyroid hormones and their binding in bullfrog tadpole plasma during metamorphosis. Gen. comp. Endocrinol., 33, 254-266.

MONDOU P.M. et KALTENBACH J.C., 1979. Thyroxine concentrations in blood serum and pericardial fluid of metamorphosing tadpoles and of adult frogs. Gen. comp. Endocrinol., 39, 343-349.

MONTAGNA W. et WILSON J.W., 1955. A cytological study of the intestinal epithelium of the mouse after total body X-irradiation. J. nation. Cancer Inst., 15, 1703-1736.

MOOG F., 1950. The functional differentiation of the small intestine. I. The accumulation of alkaline phosphomonoesterase in the duodenum of the chick. J. exper. Zool., 115, 109-129.

MOOG F., 1951. The functional differentiation of the small intestine. II. The differentiation of alkaline phosphatases in the duodenum of the mouse. J. exper. Zool., 118, 187-207.

MOOG F., 1961. The functional differentiation of the small intestine. IX. The influence of thyroid function on cellular differentiation and accumulation of alkaline phosphatase in the duodenum of the chick embryo. Gen. comp. Endocrinol., 1, 416-432.

MOOG F., 1962. Developmental adaptations of alkaline phosphatases in the small intestine. Feder. Proc., 21, 51-56.

MOOG F., 1971. Corticoids and the enzymatic maturation of the intestinal surface : alkaline phosphatase, leucyl-naphtylamidase and sucrase. Dans : "Hormones in development." (Hamburg M. et Barrington E.J.W., éds), pp. 143-160. Appleton-Century-Crofts, New York.

MOOG F., DENES A.E. et POWELL P.M., 1973. Disaccharidases in the small intestine of the mouse : Normal development and influence of cortisone, actinomycin D, and cycloheximide. Develop. Biol., 35, 143-159.

MOOG F. et ORTIZ E., 1960. The functional differentiation of the small intestine. VII. The duodenum of the foetal guinea-pig with a note on the growth of the adrenals. J. Embryol. exper. Morphol., 8, 182-194.

MOOG F. et RICHARDSON D., 1955. The functional differentiation of the small intestine. IV. The influence of adrenal cortical hormones on differentiation and phosphatase synthesis in the duodenum of the chick embryo. J. exper. Zool., 130, 29-56.

MOOG F. et YEH K.Y., 1973. Intestinal alkaline phosphatase of the rat : Development and distribution of activity with phenylphosphate and β -glycerophosphate. Comp. Biochem. Physiol., 44B, 657-666.

MORI M., MORRIS S.M. et COHEN P.P., 1979. Cell-free translation and thyroxine induction of carbamyl phosphate synthetase I messenger RNA in tadpole liver. Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A., 76, 3179-3183.

MORRIS S.M. et COLE R.D., 1978. Histone metabolism during amphibian metamorphosis. Isolation, characterization and biosynthesis. Develop. Biol., 62, 52-64.

MORSE W., 1918. Factors involved in the atrophy of the organs of the larval frog. Biol. Bull., 34, 149-166.

MOSER H., 1950. Ein Beitrag zur Analyse der Thyroxinwirkung im Kaulquappenversuch und zur Frage nach dem Zustandekommen der Frübereitschaft des Metamorphose-Reaktions-Systems. Rev. suisse Zool., supplt 2, 57, 1-144.

MOSS B. et INGRAM V.M., 1968. Hemoglobin synthesis during amphibian metamorphosis. II. Synthesis of adult hemoglobin following thyroxine administration. J. molec. Biol., 32, 493-504.

MOXEY P.M. et TRIER J.S., 1979. Development of villus absorptive cells in the human fetal small intestine : A morphological and morphometric study. Anat. Rec., 195, 463-482.

MÜLLER M., HOGG J.F. et De DUVE C., 1968. Distribution of tricarboxylic acid cycle enzymes and of glyoxylate cycle enzymes between mitochondria and peroxisomes in Tetrahymena pyriformis. J. biol. Chem., 243, 5385-5395.

MUNRO A.F., 1953. The ammonia and urea excretion of different species of amphibia during their development and metamorphosis. Biochem. J., 54, 29-36.

NAKAGAWA H., KIM K.H. et COHEN P.P., 1967. Studies on ribonucleic acid synthesis in tadpole liver during metamorphosis induced by thyroxine. I. Relation of synthesis of ribonucleic acid and of carbamyl phosphate synthetase. J. biol. Chem., 242, 635-641.

NIEUWKOOP P.D. et FABER J., 1967. Normal table of Xenopus laevis (Daudin) North Holland Publ. Co, Amsterdam.

NIKI K., YOSHIZATO K. et KIKUYAMA S., 1981. Augmentation of nuclear binding capacity for triiodothyronine by aldosterone in tadpole tail. Proc. Jap. Acad., 57, 271-275.

NOVIKOFF A.B. et GOLDFISCHER S., 1969. Visualization of peroxisomes (microbodies) and mitochondria with diaminobenzidine. J. Histochem. Cytochem., 17, 675-680.

NOVIKOFF P.M. et NOVIKOFF A.B., 1972. Peroxisomes in absorptive cells of mammalian small intestine. J. Cell Biol., 53, 532-560.

NOVIKOFF A.B., NOVIKOFF P.M., DAVIS C. et QUINTANA N., 1972. Studies on microperoxisomes. II. A cytochemical method for light and electron microscopy. J. Histochem. Cytochem., 20, 1006-1023.

NOVIKOFF A.B., NOVIKOFF P.M., DAVIS C. et QUINTANA N., 1973. Studies on microperoxisomes. V. Are microperoxisomes ubiquitous in mammalian cells ? J. Histochem. Cytochem., 21, 737-755.

ODA T. et SEKI S., 1965. Molecular structure and biochemical function of the microvilli membrane of intestinal epithelial cells with special emphasis on the elementary particles. J. Electron. Micr., 14, 210.

ODA T. et SEKI S., 1966. Molecular basis of structure and function of the plasma membrane of the microvilli of intestinal epithelial cells. Proc. 6th Int. Congress for Electron Microscopy, Kyoto.

OPPENHEIMER J.H., DILLMAN W.H., SCHWARTZ H.L. et TOWLE H.C., 1979. Nuclear receptors and thyroid hormone action : A progress report. Fed. Proc., 38, 2154-2161.

OVERTON J., 1965. Fine structure of the free cell surface in developing mouse intestinal mucosa. J. exper. Zool., 159, 195-202.

OVERTON J. et SHOUP J., 1964. Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick. J. Cell Biol., 21, 75-85.

PADYKULA H.A., 1962. Recent functional interpretations of intestinal morphology. Fed. Proc., 21, 873-879.

PAIK W.K. et BASERGA R., 1971. Autoradiographic studies on the metabolism of DNA during thyroxine-induced tadpole metamorphosis. Exper. Cell Res., 64, 190-194.

PAIK W.K., METZENBERG R.L. et COHEN P.P., 1961. Biochemical studies on amphibian metamorphosis. III. Metabolism of nucleic acids and nucleotides in tadpole liver during thyroxine-induced metamorphosis. J. biol. Chem., 236, 536-541.

PAINTER R.B. et YOUNG B.R., 1975. X-ray-induced inhibition of DNA synthesis in chinese hamster ovary, human Hela, and mouse L cells. Rad. Res., 64, 648-656.

PARSONS D.S. et PRICHARD J.S., 1965. Hydrolysis of disaccharides during absorption by the perfused small intestine of Amphibia. Nature., 5015, 1097-1098.

PATT H.M. et QUASTLER H., 1963. Radiation effects on cell renewal and related systems. Physiol. Rev., 43, 357-396.

PATTEN S.F., 1960. Renewal of the intestinal epithelium of the Urodele. Exper. Cell Res., 20, 638-641.

PATTON G.W. et NISHIMURA E.T., 1967. Developmental changes of hepatic catalase in the rat. Cancer Res., 27, 117-123.

PEREZ C., 1910. Recherches histologiques sur la métamorphose des Muscides : Calliphora erythrocephala Meig. Arch. Zool. exper. gén., 5, IV, 1-274.

PETERS T.J., 1970. The subcellular localization of di- and tri-peptide hydrolase activity in guinea-pig small intestine. Biochem. J., 120, 195.

PETERS T.J., 1976. Analytical subcellular fractionation of jejunal biopsy specimens : Methodology and characterization of the organelles in normal tissue. Clin. Sci. Molec. Med., 51, 557-574.

PETERS V.B., KELLY G.W. et DEMPITZER H.M., 1963. Cytological changes in fetal and neonatal hepatic cells of the mouse. Ann. New York Acad. Sci., 111, 87-103.

PICHERAL B., 1972. Les tissus élaborateurs d'hormones stéroïdes chez les Urodèles. V. Mise en évidence et localisation cytochimique d'une activité de type peroxydasique endogène dans la cellule du tissu glandulaire du testicule de Pleurodeles waltlii. Comparaison avec d'autres types cellulaires. J. Micr., 13, 247-262.

PICKERING A.D., 1976. Stimulation of intestinal degeneration by oestradiol and testosterone implantation in the migrating river lamprey, Lampetra fluviatilis L. Gen. comp. Endocrinol., 30, 340-346.

PIPAN N. et PSENICNIK M., 1975. The development of microperoxisomes in the cells of the proximal tubules of the kidney and epithelium of the small intestine during the embryonic development and postnatal period. Histochemistry., 44, 13-21.

PITTMAN C.S., CHAMBERS J.B., Jr., et READ V.H., 1971. The extrathyroidal conversion rate of thyroxine to triiodothyronine in normal man. J. clin. Invest., 50, 1187-1196.

POTTEN C.S. et HENDRY J.H., 1975. Differential regeneration of intestinal proliferative cells and cryptogenic cells after irradiation. Inter. nation. J. Rad. Biol., 27, 413-424.

POUYET J.C. et HOURDRY J., 1980. Effet de la thyroxine sur la prolifération des épithéliocytes intestinaux en culture organotypique, chez la larve du Crapaud-accoucheur (Alytes obstetricans Laurenti). Biol. cell., 38, 237-242.

PRAKASH A., 1961. Distribution and differentiation of alkaline phosphatatase in the gastro-intestinal tract of steelhead trout. J. exper. Zool., 146, 237-251.

QUASTLER H. et SHERMAN F.G., 1959. Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse. Exper. Cell Res., 17, 420-438.

RACE J. et CAMERON J., 1966. A method for the detection of the thyroid hormones in the plasma of amphibian larvae by thin layer chromatography. Amer. Zoologist., 6, 302 (abstr.).

RAO R N. et ENGELBERG J., 1966. Effects of temperature on the mitotic cycle of normal and synchronized mammalian cells. Dans : "Cell synchrony." (Cameron I.L. et Padilla G.M., éds), pp. 332-352. Academic Press, New York.

RAPOLA J., 1963. The adrenal cortex and metamorphosis of Xenopus laevis (Daudin). Gen. comp. Endocrinol., 3, 412-421.

RAUL F., SIMON P.M., KEDINGER M., GRENIER J.F. et HAFFEN K., 1978. Separation and characterization of intestinal brush border enzymes in adult rats and in suckling rats under normal conditions and after hydrocortisone injections. Enzyme., 23, 89-97.

RAUL F., SIMON P.M., KEDINGER M. et HAFFEN K., 1977. Intestinal enzyme activities in isolated villus and crypt cells during postnatal development of the rat. Cell Tissue Res., 176, 167-178.

REDDAN J.R. et ROTHSTEIN H., 1966. Growth dynamics of an amphibian tissue. J. Cell Physiol., 67, 307-318.

REDDY J.K., 1974. Hepatic microbody proliferation and catalase synthesis induced by methyl clofenapate, a hypolipidemic analog of CPIB. Amer. J. Pathol., 75, 103-118.

REGARD E., TAUROG A. et NAKASHIMA T., 1978. Plasma thyroxine and triiodothyronine levels in spontaneously metamorphosing Rana catesbeiana tadpoles and in adult anuran amphibia. Endocrinology., 102, 674-684.

RHODIN J., 1954. Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. Thèse de Doctorat, Institut Karolinska, Stockholm : Aktiebolaget Godvil.

RIGGS A., 1951. The metamorphosis of hemoglobin in the bullfrog. J. gen. Physiol., 35, 23-40.

RIJKE R.P.C., PLAISIER H., HOOGEVEEN A.T., LAMERTON L.F. et GALJAARD H., 1975. The effect of continuous irradiation on cell proliferation and maturation in small intestinal epithelium. Cell Tissue Kinet., 8, 441-453.

ROBERTSON O.H. et WEXLER B.C., 1960. Histological changes in the organs and tissues of migrating and spawning Pacific salmon (genus Oncorhynchus). Endocrinology., 66, 222-239.

ROBISON D., PRAHLAD K.V. et HAMPEL A.E., 1972. Amino acid uptake by Xenopus laevis embryos : Effect of triiodo-L-thyronine. Comp. Biochem. Physiol., 43B, 749-754.

ROBINSON H., CHAFFEE S. et GALTON V.A., 1977. The sensitivity of Xenopus laevis tadpole tail tissue to the action of thyroid hormones. Gen. comp. Endocrinol., 32, 179-186.

ROBINSON H. et GALTON V.A., 1976. Studies on the deiodination of thyroid hormones in Xenopus laevis tadpoles. Gen. comp. Endocrinol., 30, 83-90.

ROELS F., SCHILLER B. et GOLDFISCHER S., 1970. Microbodies (peroxisomes) in the toad, Bufo marinus. A cytochemical study. Z. Zellforsch. mikr. Anat., 108, 135-149.

ROHR H.P., HENNING L.C., RIEDE U.N. et BIANCHI L., 1971. Morphometric analysis of the rat liver cell in the perinatal period. Lab. Invest., 24, 128-139.

ROTH P.C.J., 1953. Action de la 3:5:3 triiodothyronine sur la métamorphose des têtards de Rana temporaria, L. Ann. Endocrinol., 14, 857-864.

ROUILLER C. et BERNHARD W., 1956. "Microbodies" and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. J. Biophys. Biochem. Cytol., suppl. 2, 355-359.

RYFFEL G. et WEBER R., 1973. Changes in the pattern of RNA synthesis in different tissues of Xenopus larvae during induced metamorphosis. Exper. Cell Res., 77, 79-88.

SALEH R. et SCHOELLER-RACCAUD J., 1980. Ultrastructure de l'intestin moyen de la larve de Calliphora erythrocephala Meig. Rev. canad. Biol., 39, 181-188.

SASAKI S. et SAKKA M., 1976. Arrest of metamorphosis by X-rays in flesh fly, Sarcophaga peregrina. Rad. Res., 67, 361-370.

SASAKI S. et SAKKA M., 1978. Effects of X-rays on histogenesis of abdominal epidermis and age dependency of radiosensitivity during metamorphosis of the flesh fly, Sarcophaga peregrina. Rad. Res., 73, 86-94.

SAWIN C.T., BOLAFFI J.L., BACHARACH P. et LANCE V., 1981. Conversion of thyroxine to triiodothyronine in an adult amphibian, Bufo marinus. Gen. comp. Endocrinol., 43, 17-19.

SCHARRER B., 1966. Ultrastructural study of the regressing prothoracic glands of blattarian insects. Z. Zellforsch. mikr. Anat., 69, 1-21.

SCHMITZ J., PREISER H., MAESTRACCI D., GHOSH B.K., CERDA J.J. et CRANE R.K. 1973. Purification of the human intestinal brush border membrane. Biochim. biophys. Acta., 323, 98-112.

SCHMUCKER D.L., JONES A.L. et MILLS E.S., 1974. Morphometric analysis of the ultrastructural changes in the liver of aging rats. J. Gerontol., 29, 506-513.

SCHNEEBERGER E.E., 1972. Development of peroxisomes in granular pneumocytes during pre- and postnatal growth. Lab. Invest., 27, 581-589.

SCHWARTZ H.L., SURKS M.I. et OPPENHEIMER J.H., 1971. Quantification of extrathyroidal conversion of L-thyroxine to 3,5,3'-triiodo-L-thyronine in the rat. J. clin. Invest., 50, 1124-1130.

SCOTT F.M., 1952. The developmental history of Amaroucium constellatum. III. Metamorphosis. Biol. Bull., 103, 226-241.

SCOTT P.J., VISENTIN L.P. et ALLEN J.M., 1969. The enzymatic characteristics of peroxisomes of amphibian and avian liver and kidney. Ann. New York Acad. Sci., 168, 244-264.

SEETHARAM B., YEH K.Y., MOOG F. et ALPERS D.H., 1977. Development of intestinal brush border membrane proteins in the rat. Biochim. biophys. Acta., 470, 424-436.

SHIH R.J., 1970. The development of mucous glands in Xenopus laevis during metamorphosis. Master of Science Dissertation, Purdue University, Lafayette, Indiana.

SHIH R.J. et VANABLE J.W., Jr., 1975. The development of skin mucous glands of Xenopus laevis during metamorphosis. Archiv. (Wilhem Roux) Entwickl. Mech. Organ., 177, 183-191.

SIMON P.M., KEDINGER M., RAUL F., GRENIER J.F. et HAFFEN K., 1979. Developmental pattern of rat intestinal brush border enzymic proteins along the villus crypt axis. Biochem. J., 178, 407-413.

SISKEN J.E., MORASCA L. et KIBBY S., 1965. Effects of temperature on the kinetics of the mitotic cycle of mammalian cells in culture. Exper. Cell Res., 39, 103-116.

SMALL G.M., BROLLY D. et CONNOCK M.J., 1980. Palmityl-CoA oxidase: Detection in several guinea-pig tissues and peroxisomal localization in mucosa of small intestine. Life Sci., 27, 1743-1752.

SMITH-GILL S.J., 1979. DNA synthesis in Rana pipiens tadpole liver during triiodothyronine-induced metamorphosis. Develop., Growth and Differ., 21, 291-301.

SMITH-GILL S.J. et CARVER V., 1981. Biochemical characterization of organ differentiation and maturation. Dans : "Metamorphosis : A problem in developmental biology." (Gilbert L.I. et Frieden E., éds), pp. 491-544. Plenum Press, New York.

SMITH-GILL S.J., REILLY J.G. et WEBER E.M., 1979. DNA synthesis and cell turnover in Rana pipiens tadpole liver during spontaneous metamorphosis. Develop., Growth and Differ., 21, 281-290.

SPIEGEL E.S. et SPIEGEL M., 1970. Some observations on the ultrastructure of the hepatocyte in the metamorphosing tadpole. Exper. Cell Res., 61, 103-112.

SPRIEJ Th. E., 1971. Cell death during the development of the imaginal disks of Calliphora erythrocephala. Netherl. J. Zool., 21, 221-264.

STADLER H. et WEBER R., 1970. Autoradiographische Untersuchungen über die Frühwirkung von Thyroxin auf die RNS-Synthese im Gehirn von Xenopuslarven. Rev. suisse Zool., 77, 587-596.

STARITA-GERIBALDI M., FEHLMANN M. et SUDAKA P., 1977. Etude des protéines de la bordure en brosse des entérocytes du chien. Arch. internation. Physiol. Biochim., 85, 245-254.

STEPHENS R.J. et BILS R.F., 1967. Ultrastructural changes in the developing chick liver. I. General cytology. J. Ultrastruct. Res., 18, 456-474.

STENGER A. et CHARIPPER H.A., 1946. A study of adrenal cortical tissue in Rana pipiens with special reference to metamorphosis. J. Morphol., 78, 27-41.

STERLING K., BRENNER M.A. et NEWMAN E.S., 1970. Conversion of thyroxine to triiodothyronine in normal human subjects. Science, U.S.A., 169, 1099-1100.

STEVENS L.A., 1962. A comparative study of enzymes in fetal, young and adult rat. Comp. Biochem. Physiol., 6B, 129-135.

STROBAND H.W.J. et DEBETS F.M.H., 1978. The ultrastructure and renewal of the intestinal epithelium of the juvenile grasscarp, Ctenopharyngodon idella (Val.). Cell Tissue Res., 187, 181-200.

SUMIYA M. et HORIUCHI S., 1980. Some aspects of the shortening of the small intestine in Rana catesbeiana larvae during metamorphosis. Zoological Magazine., 89, 176-182.

SURKS M.I. et OPPENHEIMER J.H., 1977. Concentration of L-thyroxine and L-triiodothyronine specifically bound to nuclear receptors in rat liver and kidney. Quantitative evidence favoring a major role of T_3 in thyroid hormone action. J. clin. Invest., 60, 555-562.

SUZUKI S. et SUZUKI M., 1978. On the synthesis and secretion of thyroid hormones during metamorphosis in Rana catesbeiana. Zoological Magazine., 87, 465.

SUZUKI S. et SUZUKI M., 1981. Changes in thyroidal and plasma iodine compounds during and after metamorphosis of the bullfrog, Rana catesbeiana. Gen. comp. Endocrinol., 45, 74-81.

TATA J.R., 1967. The formation, distribution and function of ribosomes and microsomal membranes during induced amphibian metamorphosis. Biochem. J., 105, 783-801.

TATA J.R., 1968. Early metamorphic competence of Xenopus larvae. Developt. Biol., 18, 415-440.

TATA J.R., 1970. Simultaneous acquisition of metamorphic response and hormone binding in Xenopus larvae. Nature., 227, 686-689.

TATA J.R., 1971. Hormonal regulation of metamorphosis. Dans : "Control mechanisms of growth and differentiation.", 25, pp. 163-181. University Press, Cambridge.

TATA J.R., 1974. Growth and developmental action of thyroid hormones at the cellular level. Handbook of Physiology, section 7 : Endocrinology. (Greep R.O. et Astwood E.B., éds), 3, pp. 469-478. Williams et Wilkins, Londres.

TAYLOR A.C. et KOLLROS J.J., 1946. Stages in the normal development of Rana pipiens larvae. Anat. Rec., 94, 7-23.

TEMPLE N.J., MARTIN P.A. et CONNOCK M.J., 1979. Intestinal peroxisomes of goldfish (Carassius auratus). Examination for hydrolase, dehydrogenase and carnitine acetyltransferase activities. Comp. Biochem. Physiol., 64B, 57-63.

TERLOU M. et PLOEMACHER R.E., 1973. The distribution of monoamines in the tel-, di- and mesencephalon of Xenopus laevis tadpoles, with special reference to the hypothalamo-hypophysial system. Z. Zellforsch. mikr. Anat., 137, 521-540.

THEIL E.C., 1970. Red blood cell replacement during the transition from embryonic (tadpole) hemoglobin to adult (frog) hemoglobin in Rana catesbeiana. Comp. Biochem. Physiol., 33B, 717-720.

THOMSON J.F. et KLIPFEL F.J., 1957. Further studies on cytoplasmic particulates isolated by gradient centrifugation. Arch. Biochem. Biophys., 70, 224-238.

TILNEY L.G. et MOOSECKER M., 1971. Actin in the brush border of epithelial cells of the chicken intestine. Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A., 68, 2611-2615.

TOLBERT N.E., 1971. Microbodies : Peroxisomes and glyoxysomes. Annu. Rev. Plant Physiol., 22, 45-74.

TOLMACH L.J. et JONES R.W., 1977. Dependence of the rate of DNA synthesis in X-irradiated Hela S 3 cells on dose and time after exposure. Rad. Res., 69, 117-133.

TONER P.G., CARR K.E. et WYBURN G.B., 1971. The digestive system - An ultrastructural atlas and review. Butterworth, Londres.

TONOUE T. et FRIEDEN E., 1970. The effect of triiodothyronine on leucine incorporation into tail and other tadpole tissues. J. biol. Chem., 245, 2359-2362.

TOTH E. et TABACHNICK M., 1979. In vivo demonstration of the presence of specific saturable binding sites for triiodothyronine in nuclei of tadpole liver. Gen. comp. Endocrinol., 38, 345-355.

TRANDABURU T., 1980. Microperoxisomes and catalase peroxidatic activity in the pancreas of two amphibian species (Salamandra salamandra L. and Rana esculenta L.). Acta histochem., 66, 135-145.

TRASON W., 1957. Larval structure and development of the oozoid in the ascidian Euherdmania claviformis. J. Morphol., 100, 509-545.

TRIER J.S. et BROWNING T.H., 1966. Morphological response of the mucosa of human small intestine to X-ray exposure. J. clin. Invest., 45, 194-204.

TRIER J.S., BROWNING T.H. et FOROOZAN P., 1968. The effects of X-ray therapy on the morphology of the mucosa of the human small intestine. Dans : "Gastro-intestinal radiation injury." (Sullivan M.F., éd.), pp. 57-72. Excerpta med., internation. Congr. Ser., Pays-Bas.

TSUKADA H., MOCHIZUKI Y. et KONISHI T., 1968. Morphogenesis and development of microbodies of hepatocytes of rats during pre- and postnatal growth. J. Cell Biol., 37, 231-243.

TU S.C., EDELSTEIN S.J. et McCORMICK D.B., 1973. A modified purification method and properties of pure porcine D-amino acid oxidase. Arch. Biochem. Biophys., 159, 889-896.

UEZATO T., OHTA H. et FUJITA M., 1981. Developmental change in rat intestinal alkaline phosphatase. Biochem. internation., 2, 561-566.

UNSWORTH B.R. et COHEN P.P., 1968. Effect of thyroxine treatment on the transfer of amino acids from aminoacyl transfer ribonucleic acid into protein by cell-free extracts from tadpole liver. Biochemistry., 7, 2581-2588.

VANABLE J.W., Jr., 1964. Granular gland development during Xenopus laevis metamorphosis. Develop. Biol., 10, 331-357.

VAN DENBOS G. et FRIEDEN E., 1976. DNA synthesis and turnover in the bullfrog tadpole during metamorphosis. J. biol. Chem., 251, 4111-4114.

VAN DER STARRE-VAN DER MOLEN L.G. et DE PRIESTER W., 1972. Brush border formation in the midgut of an insect, Calliphora erythrocephala Meigen. The formation of microvilli in the midgut during embryonic development. Z. Zellforsch. mikr. Anat., 125, 295-305.

VAN OVERBEEKE A.P. et McBRIDE J.R., 1971. Histological effects of 11-ketotestosterone, 17 α-methyltestosterone, estradiol, estradiol cyprionate, and cortisol on the interrenal tissue, thyroid gland and pituitary gland of gonadectomized sockeye salmon (Oncorhynchus nerka). J. Fish. Res. Board Canada., 28, 477-484.

VENDRELY C., CHANY C. et ROBBE-MARIDOR F., 1968. Influence de la température sur la durée des phases du cycle de génération de cellules en culture. Bull. Cancer. 55, 21-30.

VERNE J. et HEBERT S., 1949. L'apparition de l'activité phospho-monoestérasique de l'intestin au cours du développement et ses rapports avec le fonctionnement cortico-surrénal. Ann. Endocrinol., 10, 456-460.

VICKERS T., 1962. A study of the intestinal epithelium of the goldfish Carassius auratus : Its normal structure, the dynamics of cell replacement, and the changes induced by salts of cobalt and manganese. Quart. J. micr. Sci., 103, 93-110.

VIGIL E.L., 1973. Plant microbodies. J. Histochem. Cytochem., 21, 958-962.

VISENTIN L. et ALLEN J., 1969. Allantoinase : Association with amphibian hepatic peroxisomes. Science, U.S.A., 163, 1463-1464.

WATANABE I., 1974. Radiation effects on DNA chain growth in mammalian cells. Rad. Res., 58, 541-556.

WEBER R., 1969. The isolated tadpole tail as a model system for studies on the mechanism of hormone dependent tissue involution. Gen. comp. Endocrinol., suppl. 2, 408-416.

WEBER K. et OSBORN M., 1975. Proteins and sodium dodecylsulfate : Molecular weight determination on polyacrylamide gels and related procedures. Dans : "The proteins." (Neurath H., Hill R.L. et Bofèr C.L., éds), 1, pp. 180-223. Academic Press, New York.

WEINSIEDER A. et ROBERTS L., 1979. Effects of thyroid hormones on cell proliferation in the cornea and lens of hypophysectomized adult frogs. I.R.C.S. Medical Science : Biochemistry; Cell and Membrane Biology; Endocrine system; The Eye; Pharmacology; Physiology. 7, 578.

WEISBART M., 1975. In vitro incubations of presumptive adrenocortical cells from the opisthonephros of the adult sea lamprey, Petromyzon marinus. Gen. comp. Endocrinol., 26, 368-373.

WEISBART M. et IDLER D.R., 1970. Reexamination of the presence of corticosteroids in two cyclostomes, the Atlantic hagfish (Myxine glutinosa L.) and the sea lamprey (Petromyzon marinus L.). J. Endocrinol., 46, 29-43.

WEISER M.M., 1973. Intestinal epithelial cell surface membrane glycoprotein synthesis. J. biol. Chem., 248, 2536-2541.

WEISS P. et ROSSETTI F., 1951. Growth responses of opposite sign among different neuron types exposed to thyroid hormone. Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A., 37, 540-556.

WERTZ R.L., DONALDSON D.J. et MASON J.M., 1976. X-ray inhibition of DNA synthesis and mitosis in internal tissues during the initiation of limb regeneration in the adult newt. J. exper. Zool., 198, 253-259.

WHITE B.A. et NICOLL C.S., 1981. Hormonal control of amphibian metamorphosis. Dans : "Metamorphosis : A problem in developmental biology." (Gilbert L.I. et Frieden E., éds), pp. 363-396. Plenum Press, New york.

WIERNIK G., SHORTER R.G. et CREAMER B., 1962. The arrest of intestinal epithelium "turn over" by the use of X-irradiation. Gut., 3, 26-31.

WITHERS H.R. et ELKIND M.M., 1970. Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation. Internat. J. Rad. Biol., 17, 261-267.

WIXOM R.L., REDDY M.K. et COHEN P.P., 1972. A concerted response of the enzymes of urea biosynthesis during thyroxine-induced metamorphosis of Rana catesbeiana. J. biol. Chem., 247, 3684-3692.

WORGUL B.V. et ROTHSTEIN H., 1974. On the mechanism of thyroid mediated mitogenesis in adult anura. I. Preliminary analyses of growth kinetics and macromolecular syntheses in lens epithelium, under the influence of exogenous triiodothyronine. Cell Tissue Kinet., 7, 415-424.

WRIGHT M.L., 1973. DNA synthesis during differentiation of tadpole shank epidermis. J. exper. Zool., 186, 237-256.

WRIGHT M.L., 1977. Regulation of cell proliferation in tadpole limb epidermis by thyroxine. J. exper. Zool., 202, 223-234.

WRIGHT M.L., SICBALDI E.M., LOVERIDGE K.M., PIKE P.A. et MAJEROWSKI M.A., 1981. Cell population kinetics in tadpole limb epidermis during thyroxine-induced, spontaneous, and prolactin-inhibited metamorphosis. Gen. comp. Endocrinol., 43, 451-461.

WURTH M.A. et MUSACCHIA X.J., 1964. Renewal of intestinal epithelium in the freshwater turtle Chrysemys picta. Anat. Rec., 148, 427-439.

WYATT G.R. et TATA J.R., 1968. The hybridization capacity of ribonucleic acid produced during hormone action. Biochem. J., 109, 253-258.

YAMAMOTO K., 1964. Changes in thyroxine deiodinase of the frog, Xenopus laevis Daudin, during metamorphosis and growth. Gen. comp. Endocrinol., 4, 360-369.

YAMAMOTO K., KANSKI D. et FRIEDEN E., 1966. The uptake and excretion of thyroxine, triiodothyronine and iodide in bullfrog tadpoles after immersion or injection at 25° and 6°C. Gen. comp. Endocrinol., 6, 312-324.

YAMAMOTO T., 1966. An electron microscope study of the columnar epithelial cells in the intestine of fresh water teleosts : goldfish (Carassius auratus) and rainbow trout (Salmo irideus). Z. Zellforsch. mikr. Anat., 72, 66-87.

YEH K.Y. et MOOG F., 1974. Intestinal lactase activity in the suckling rat : Influence of hypophysectomy and thyroidectomy. Science, U.S.A., 182, 77-79.

YEH K.Y. et MOOG, F., 1975. Development of the small intestine in the hypophysectomized rat. II. Influence of cortisone, thyroxine, growth hormone, and prolactin. Developt. Biol., 47, 173-184.

YEH K.Y. et MOOG F., 1977. Influence of the thyroid and adrenal glands on the growth of the intestine of the suckling rat and on the development of intestinal alkaline phosphatase and disaccharidase activities. J. exper. Zool., 200, 337-348.

YOSHIZATO K. et FRIEDEN E., 1975. Increase in binding capacity for triiodothyronine in tadpole tail nuclei during metamorphosis. Nature, 254, 705-707.

YOSHIZATO K., KISTLER A. et FRIEDEN E., 1975. Binding of thyroid hormones by nuclei of cells from bullfrog tadpole tail fins. Endocrinology, 97, 1030-1035.

YOUSON J.H., 1980. Morphology and physiology of lamprey metamorphosis. Canad. J. Fish aquat. Sci., 37, 1687-1710.

YOUSON J.H. et CONNELLY K.L., 1978. Development of longitudinal mucosal folds in the intestine of the anadromous sea lamprey, Petromyzon marinus L. during metamorphosis. Canad. J. Zool., 56, 2364-2371.

YOUSON J.H. et LANGILLE R.M., 1981. Proliferation and renewal of the epithelium in the intestine of young adult anadromous sea lamprey, Petromyzon marinus L. Canad. J. Zool., 59, 2341-2350.

YOUSON J.H. et HORBERT W.R., 1982. Transformation of the intestinal epithelium of the larval anadromous sea lamprey, Petromyzon marinus L., during metamorphosis. J. Morphol., 171, 89-117.

La recherche bibliographique a été arrêtée le 1er mars 1982.

La composition, le tirage et le brochage
de cette thèse ont été réalisés par
le Centre de reprographie et
le Centre Audio-Visuel de
l'E.N.S. de Saint-Cloud
- 1982 -